

BEDEUTUNG UND HÄUFIGKEIT
CHROMOSOMALER Q-POLYMORPHISMEN
IN DER PRÄNATALEN DIAGNOSTIK

Diss. Erlangen
1983

von
Roland Martin Hanke
aus
Nürnberg





Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546202_0075

Aus dem Institut für Humangenetik und Anthropologie

der Universität Erlangen-Nürnberg

Direktor: Professor Dr. med. R. A. Pfeiffer

BEDEUTUNG UND HÄUFIGKEIT CHROMOSOMALER Q-POLYMORPHISMEN IN DER PRÄNATALEN DIAGNOSTIK

INAUGURAL – DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde

der Medizinischen Fakultät

der Friedrich - Alexander - Universität

Erlangen-Nürnberg

vorgelegt

von

Roland Martin Hanke

aus

Nürnberg

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg

Dekan: Prof. Dr. V. Becker

Referent: Prof. Dr. R.A. Pfeiffer

Tag der mündlichen Prüfung: 04.07.1983

1.	EINLEITUNG	5
2.	GRUNDLAGEN CHROMOSOMALER NORMVARIANTEN	7
2.1.	CHROMATIN	7
2.2.	GRUNDLAGEN DER DARSTELLUNG VON CHROMOSOMENBANDMUSTERN	10
2.3.	NORMVARIANTEN DER CHROMOSOMENSTRUKTUR	13
2.4.	DIE STABILITÄT NORMVARIABLER CHROMOSOMENREGIONEN	14
2.5.	CHROMOSOMALE NORMVARIANTEN UND GENETISCHE EFFEKTE	15
2.6.	KLINISCH-DIAGNOSTISCHE BEDEUTUNG DER NORMVARIANTEN	18
3.	EIGENE UNTERSUCHUNGEN	20
3.1.	MATERIAL	20
3.2.	METHODE	21
3.2.1.	HERSTELLUNG DER CHROMOSOMENPRÄPARATE	21
3.2.2.	KRITERIEN ZUR BEURTEILUNG DER NORMVARIANTEN NACH GRÖSSE UND INTENSITÄT DER FLUORESCENZ	22
4.	ERGEBNISSE	24
5.	DISKUSSION	28
5.1.	BEURTEILUNGSKRITERIEN DER NORMVARIANTEN	28
5.1.1.	BEURTEILUNG DER GRÖSSENVARIANTEN	28
5.1.2.	BEURTEILUNG DER HELBIGKEIT	31
5.1.3.	VERTEILUNG DER NORMVARIANTEN NACH GRÖSSE UND HELBIGKEIT	31
5.2.	EINZELDARSTELLUNG DER GEFUNDENEN NORMVARIANTEN	33
5.2.1.	CHROMOSOM NR. 3	33
5.2.2.	CHROMOSOM NR. 4	35
5.2.3.	CHROMOSOM NR. 13	36
5.2.3.1.	Normvarianten des Zentromerbereiches	36
5.2.3.2.	Normvarianten der Satellitenregion	37
5.2.3.3.	Varianten des Satellitenstieles	37
5.2.4.	CHROMOSOM NR. 14	39
5.2.4.1.	Normvarianten des kurzen Chromosomenarmes	39
5.2.4.2.	Normvarianten der Satellitenregion	40
5.2.4.3.	Varianten des Satellitenstieles	40



5.2.5.	CHROMOSOM NR. 15	41
5.2.5.1.	Normvarianten des kurzen Chromosomenarmes	41
5.2.5.2.	Normvarianten der Satellitenregion	42
5.2.5.3.	Varianten des Satellitenstieles	42
5.2.6.	CHROMOSOM NR. 21	43
5.2.6.1.	Normvarianten des kurzen Chromosomenarmes	43
5.2.6.2.	Normvarianten der Satellitenregion	43
5.2.6.3.	Varianten des Satellitenstieles	43
5.2.7.	CHROMOSOM NR. 22	44
5.2.7.1.	Normvarianten des kurzen Chromosomenarmes	44
5.2.7.2.	Normvarianten der Satellitenregion	44
5.2.7.3.	Varianten des Satellitenstieles	45
5.2.8.	GEMEINSAME VARIANTEN ALLER AKROZENTRISCHER CHROMOSOMEN	45
5.2.9.	DIE ABGRENZUNG VON NORMVARIANTEN GEGENÜBER PATHOLOGISCHEN STRUKTURABERRATIONEN	46
5.2.10.	NORMVARIANTEN DER CHROMOSOMEN NR. 1, 9 UND 16	46
5.2.11.	NORMVARIANTEN DER ÜBRIGEN AUTOSOMEN	51
5.2.12.	NORMVARIANTEN DES Y CHROMOSOMS	51
5.2.12.1.	Yq+	53
5.2.12.2.	Yq-	54
5.2.12.3.	Y q122 nf / 122 f	57
5.3.	DIE PHOTODOKUMENTATION DER QFQ-NORMVARIANTEN	61
5.4.	VERTEILUNG VON QFQ-VARIANTEN IN DER LITERATUR	63
6.	EMPFEHLUNG	65
7.	ZUSAMMENFASSUNG	67
8.	LITERATUR	70

1. EINLEITUNG

Unter chromosomalen Normvarianten versteht man morphologische Variationen der Chromosomen, die durch geeignete Färbeverfahren nachgewiesen werden können und keinen Selektionsnachteil für ihren Träger haben.

Es erscheint zweckmäßig, die Normvarianten nach quantitativen (Länge, Größe, Form) und qualitativen (Fluoreszenzintensität) Kriterien zu unterscheiden.

Es handelt sich um relativ stabile chromosomale Merkmale, die gewebsunabhängig ausgeprägt sind, in der Meiose offenbar selten verändert werden und, verglichen mit einem dominanten phänotypischen Merkmal, weitergegeben werden.

Weil die intrafamiliären Unterschiede deshalb gering sind, können Normvarianten auch im Abstammungsnachweis verwendet werden.

Interfamiliäre Unterschiede sind jedoch sehr groß und legen die Vermutung nahe, daß die Variationen kontinuierlich in der Bevölkerung verteilt sind. Daraus kann man schließen, daß zahlreiche Deletionen und Duplikationen der Chromatinregionen erfolgt sind.

Die Normvarianten werden als chromosomale Polymorphismen zusammengefaßt. Diese Bezeichnung unterstreicht die Auffassung, daß die Ausbildung und der Grad der Ausprägung chromosomaler Normvarianten weder einen Einfluß auf die Lebensqualität, noch auf die Fortpflanzungsfähigkeit, das Alter oder die Selektion ihrer Träger auszuüben scheint. Genetische, sowie pathologische Effekte wurden bisher nicht beobachtet. Die Forderung, daß in der cytogenetischen Diagnostik die Normvarianten eindeutig von pathologischen Chromosomenformen abgegrenzt werden sollen, ist oft schwierig zu erfüllen. Voraussetzung ist die Anwendung vorhandener, optimaler Techniken. Häufig jedoch müssen erst die Familienangehörigen untersucht werden, um die karyotypische Neutralität beweisen zu können.

Nach der Art der Darstellung werden die Normvarianten als C-Heterochromatische und Q-Normvarianten klassifiziert. Beide Klassen haben gemeinsame Substrate.

Bisher wurden die Art, die Verteilung und die Häufigkeit chromosomaler Polymorphismen in ausgewählten und unausgewählten Populationen mit Hilfe von Chromosomendarstellungen aus Lymphozytenkulturen untersucht.

Im vorliegenden Material wurden Normvarianten erstmals in Chromosomen gesucht, die ausschließlich von fetalen, epithelialen Zellen aus dem Fruchtwasser stammen.

Die Auswahl der zu untersuchenden Individuen stand in keinem Zusammenhang mit den zu erwartenden Normvarianten.

Zur Auswertung gelangten ausschließlich Karyogramme, in denen die Chromosomen durch eine Färbung mit dem Fluoreszenzfarbstoff Quinacrin Mustard dargestellt waren (QFQ).

Vorliegende Untersuchung soll die Möglichkeiten und Grenzen der Erkennung chromosomaler Normvarianten mit Hilfe des QFQ-Bänderungsverfahrens bei den Chromosomen von Fruchtwasserzellen aufzeigen.

Es sollen drei Fragen kontrolliert werden:

1. An welchen Kriterien lassen sich die Normvarianten menschlicher Chromosomen erkennen,
2. wie häufig werden sie in vorliegendem Kollektiv gefunden,
und
3. bei welchen Normvarianten treten differentialdiagnostische Schwierigkeiten bei der Abgrenzung von echten Chromosomenaberrationen auf, so daß Familienuntersuchungen erforderlich werden ?

2. GRUNDLAGEN CHROMOSOMALER NORMVARIANTEN

2.1. CHROMATIN

Alle genetischen Informationen einer Eukaryontenzelle sind in Chromosomen, die den Zellkern bilden, gespeichert. Deren Primärstruktur ist die von WATSON und CRICK (1953) erkannte DNS-Doppelhelix, die codiert die genetische Information enthält. Sie macht etwa 15 % des Kerngewichtes aus (BAHR 1977).

Der Rest verteilt sich auf 15 % Histone und mindestens 50 % Nicht-Histone. Die Funktion der Nicht-Histone ist noch unbekannt.

Die Histone werden als verantwortlich für die Sekundärstruktur angesehen.

Ihre Untergruppen H_2-H_5 bilden Octomere (KRONENBERG 1977), um die sich die 20 Å dicke DNS-Doppelhelix in einfachen Windungen wickelt und so eine perlenkettenartige Anordnung aus einzelnen Nucleosomen gebildet wird. Diese Struktur wird durch Histone der Gruppe H_1 zu einem 250 Å dicken Chromatinfaden zusammengezogen ("kondensiert") (COMINGS 1978).

Unter Chromosomen versteht man die Tertiärstruktur des Chromatins während der Mitose und der Meiose. Sowohl die Ursachen, als auch die Art der Tertiärstruktur sind zur Zeit größtenteils unbekannt (COMINGS 1978).

Mit Hilfe elektronenmikroskopischer und färbetechnischer Verfahren lassen sich bisher jedoch folgende Aussagen treffen:

1. Die Chromatiden eines jeden Chromosoms bestehen aus einem einzigen Chromatinfaden (BAHR 1977, COMINGS 1977).
2. Es existieren im Zellkern Matrizen aus Nicht-Histonen mit der Eigenschaft, vor allem poly-T-Abschnitte zu binden (COMINGS 1978).

3. Mehrere AT-reiche DNS-Abschnitte des Chromatins lagern sich an eine Matrix an und bilden dabei Schleifen, sogenannte Chromomere (COMINGS 1978).
4. Zwischen den Chromomeren verlaufen Chromatinfäden longitudinal und bilden "Zwischenbanden" (BAHR 1977, COMINGS 1978).
5. Der Chromatinfaden erstreckt sich von einem Chromomer zum anderen nicht nur in einer Richtung, sondern kann auch rückläufig sein (BAHR 1977).
6. Chromomere und Zwischenbanden bauen miteinander im Wechsel das Chromatin auf.
7. Bei der Kondensierung eines Chromosoms treten die Chromomere entlang der Chromatiden derselben Chromosomen stets an den gleichen Stellen auf. Diese verändern sich von Generation zu Generation gewöhnlich nicht und sind für jede Spezies determiniert (BAHR 1977).
8. Durch verschiedene Methoden läßt sich entlang der Chromatiden ein typisches Farbmuster induzieren, das auf dem Wechsel von Chromomeren und longitudinalen Zwischenbanden und ihrer Spezifität zum verwendeten Farbstoff beruht.

Mit Hilfe von Chromosomendarstellungsverfahren (siehe Abschnitt 2.2.), selektiver in situ-Hybridisierung (PARDUE et al. 1970), Autoradiographie (CALDERON et al. 1973) und dem Nachweis von verschiedenen stark repetitiven Satelliten-DNS-Abschnitten entlang der Chromatiden (YASMINEH et al. 1969) gelang es, den unterschiedlich gefärbten Chromosomenabschnitten folgende Eigenschaften zuzuordnen:

1. Die longitudinalen Zwischenbänder entsprechen den gefärbten Anteilen bei der R-Färbung und sind auf den Chromosomenarmen lokalisiert. Sie zeigen genetische Aktivität und sind während der Interphase entspiralisiert. Ihre Replikation erfolgt in der frühen S-Phase. Sie sind reich an GC-Basen und zeigen neben einem

mittelgradigen Repetitionsverhalten nur einmalig auftretende, komplexe Basensequenzen.

Abschnitte dieses Typs faßt man unter der Bezeichnung "Euchromatin" zusammen (COMINGS 1978).

2. Vom Euchromatin unterscheidet man das "Heterochromatin" (HEITZ 1928). Heterochromatische Chromosomenabschnitte werden durch die Chromomere entlang der Chromatiden gebildet. Sie sind während der Interphase hochspiralisiert und repliziert stets spät in der S-Phase. Heterochromatin unterscheidet sich hinsichtlich seiner Lokalisation auf dem Chromatid und seiner Funktion:
 - aa) Constitutives Heterochromatin ist AT-reich (BROWN 1966, WEISBLUM et al. 1973), kann jedoch in Abhängigkeit von der vorliegenden Satelliten-DNS GC-reich oder ausgeglichen sein (COMINGS 1978, VIEGAS-PEQUINGUOT et al. 1981). Es ist hauptsächlich an den Zentromeren lokalisiert und setzt sich aus hoch repetitiven Basensequenzen zusammen. Zu seiner spezifischen Darstellung eignet sich die C-Färbung.
 - ab) Von dem zentromerisch gelegenen konstitutiven Heterochromatin läßt sich ein "intercalares" Heterochromatin der Chromosomenarme unterscheiden. Im Gegensatz zum konstitutiven Heterochromatin ist es immer AT-Basen-reich. Seine DNS weist mittelgradig repetitive, sowie spezifisch "informative" Basensequenzen auf und kann daher auch genetisch aktiv sein (COMINGS 1978, BAHR 1977). Intercalares Heterochromatin wird bei der G- und Q-Färbung als Farbmuster entlang der Chromosomenarme sichtbar.
 - b) Als fakultatives Heterochromatin (BROWN 1966) bezeichnet man das bei weiblichen Säugern zeitweise inaktivierte X-Chromosom mit heterochromatischem Färbverhalten. Es besteht aus kondensiertem, während der Interphase nicht transkribiertem Euchromatin (RIEGER 1976). Im Zustand der genetischen Aktivität

unterscheidet sich das X-Chromosom nicht von den Autosomen.

Übereinstimmend werden von allen Autoren die euchromatischen Chromatinabschnitte als Träger genetisch "wertvoller" Informationen angesehen.

In den heterochromatischen Strukturen scheint dagegen keine (MÜLLER und KLINGER 1975, YUNIS 1974, SANCHEZ und YUNIS 1974) oder nur geringe genetische Informationen vorhanden zu sein (BAHR 1977).

BAHR (1977) vermutet, daß in den Chromatinschleifen der Chromomere (= Heterochromatin) eventuell 15 - 20 Genloci enthalten sind und schließt das Vorhandensein von Strukturgenen auch bei langen Sequenzen stark repetitiver DNS nicht aus, sondern hält die Replikationen für möglicherweise notwendig.

Nach GELDERMANN (et al. 1971) wird die DNS des Heterochromatins zwar transkribiert, jedoch nicht translatiert, so daß die bereitstehenden Informationen von der Zelle nicht verwendet werden. Dies scheint ein Grund für die ohne Wirkungen bleibenden quantitativen Änderungen, beispielsweise der sekundären Konstriktion des Chromosoms Nr. 9 (HANSMANN 1976), zu sein, sowie der qualitativen Änderungen aufgrund unterschiedlicher Spiralisierungsgrade des Chromatins bei Helligkeitsvarianten in Q-Färbungen.

Obwohl dem Heterochromatin eine Reihe von Funktionen zugeschrieben werden (eine Zusammenstellung bei YUNIS 1974), sind über den Einfluß des Heterochromatins auf die Zelle keine endgültigen Aussagen möglich.

2.2. GRUNDLAGEN DER DARSTELLUNG VON CHROMOSOMENBANDMUSTERN

Ein konstantes, durch Behandlung mit Fluorochromen induziertes Farbmuster entlang der Chromosomen wurde erstmals von CASPERSSON (1969, 1970a) beschrieben. Durch Verwendung anderer Farbstoffe bei der Vorbehandlung der Chromosomen sowie selektiver Chromosomendenaturierung

konnten analoge Muster induziert werden. Alle Darstellungsmethoden scheinen auf der Diskontinuität der Chromatinstruktur zu beruhen.

In ihr liegen drei ursächliche Gründe für die Entstehung des Chromosomenbandmusters (nach BAHR 1977):

1. Die Struktur des Chromatins ist nicht kontinuierlich, sondern bildet an determinierten Stellen Chromomere.
2. Es bestehen entlang des Chromatids unterschiedliche chemische Affinitäten. Sie sind von den Chromomeren unabhängig und diskontinuierlich verteilt.
3. Das Chromatid wird bei Anwendung von Alkali oder proteolytischen Enzymen nicht überall gleich stark denaturiert.

Die gebräuchlichsten Färbetechniken lassen sich durch Interaktionen an den geschilderten Strukturen erklären.

Es wird angenommen, daß eine entlang der Chromatiden schon vorhandene Segmentierung lediglich verstärkt und das Muster nicht erst durch die Behandlung des Chromosoms induziert wird (COMINGS 1978).

Für das G-Bandmuster (SEABRIGHT 1971) läßt sich die Übereinstimmung der angefärbten Chromatinabschnitte mit der Lokalisation von Chromomeren nachweisen (McKAY 1973, YUNIS und SANCHEZ 1975, OKADA und COMINGS 1974, BAHR 1977). Dabei setzen sich die G-Bänder aus jeweils mehreren Chromomeren zusammen (YUNIS und SANCHEZ 1975), wie die Analyse von Prometaphasenchromosomen zeigt (BAHR 1977, YUNIS et al. 1977). Bei der Behandlung der Chromosomen während der Färbung wird eine Verschiebung von Chromatin der longitudinalen Zwischenbanden in Richtung der Chromomere (COMINGS et al. 1973) mit einer Maskierung der Zwischenbanden-DNS durch Nicht-Histone (COMINGS und AVELINO 1975) beobachtet. Die im Giemsa Farbstoff enthaltenen Farbkomponenten legen sich anschließend nur an die ungeschützte DNS an (COMINGS und AVELINO 1975), ein Einfluß der Histone ist nicht festzustellen (COMINGS 1978).

Die Tatsache, daß sich das zentromernahe Heterochromatin der Chromosomen Nr. 1, 9 und 16 bei der G-Färbung nur schwach anfärbt, kann noch nicht erklärt werden (COMINGS et al. 1976).

Für den Farbstoff Quinacrin Mustard (QM) ist bekannt, daß er sich in lockerer Bindung an AT-reiche DNS-Abschnitte legt (COMINGS et al. 1975a), wobei poly-AT-Basensequenzen bevorzugt werden (COMINGS et al. 1976). Nach WEISBLUM und HASETH (1973) wird die Fluoreszenz durch AT-Basen verstärkt, durch GC-Basen gedämpft.

Da die Q- und G-Bänder in ihrer Lokalisation auf den Chromatiden übereinstimmen, müssen für die Erklärung der Q-Banden die Chromomere ebenfalls berücksichtigt werden. Tatsächlich lagern sich den Matrizen der Chromomere hauptsächlich poly-T-Abschnitte der DNS an, wodurch eine Anhäufung von AT-reichen Basensequenzen an den chromomerischen Regionen resultiert und vermehrt QM-Farbstoff gebunden wird. Ein Einfluß von Proteinen bei der Färbung mit QM ist nicht nachzuweisen (COMINGS et al. 1975a).

Bei der Darstellung von Q-Bandmustern mit Hilfe der Fluoreszenzmikroskopie bei Verwendung von Quinacrin (QFQ-Verfahren nach CASPERSSON 1970 b) läßt sich somit zwischen AT-reichen, spät replizierenden, heterochromatischen Q-Banden und GC-reichen, früh replizierenden, die longitudinalen Zwischenbanden repräsentierenden, euchromatischen R-Banden unterscheiden.

Das C-Bandmuster entspricht dem centromerischen bzw. constitutiven C-Heterochromatin. Seine Darstellung beruht auf der größeren Widerstandsfähigkeit der Nicht-Histone, wie z.B. der Matrix der Chromomere, an Stellen stark repetitiven, satelliten-DNS-reichen Chromatins (BURKHOLDER et al. 1977) während der Denaturierung vor der Färbung. Dadurch wird die Nicht-C-Band-DNS extrahiert und der Giemsa-Farbstoff lagert sich nur der verbleibenden DNS an (COMINGS et al. 1973).

Die Darstellung eines dem Q- bzw. G-Bändern reversen Musters (R-Bänderung) beruht auf der Färbung der euchromatischen Chromatinabschnitte zwischen den Chromomeren und wird durch eine selektive thermische Denaturierung AT-reicher DNS (DUTRILLAUX et al. 1974) erreicht. Dabei werden besonders die telomerischen Chromosomenabschnitte dargestellt. Daß es sich hierbei um GC-reiche Regionen handelt, konnte SCHWEIZER (1978) mit Hilfe von GC-spezifischen Fluorochromen nachweisen.

2.3. NORMVARIANTEN DER CHROMOSOMENSTRUKTUR

Das durch die Darstellungsmethoden sichtbar gewordene Muster entlang der Chromatiden zeigt eine relativ große Stabilität innerhalb einer Spezies (BAHR 1977). Trotzdem lassen sich an den für jede Darstellungsmethode typischen Stellen Abweichungen feststellen. Diese finden sich nur an C-Heterochromatischen Chromosomenabschnitten. Die Variationen des C-Heterochromatins zeigen sich dabei entweder durch Unterschiede in der Fluoreszenzintensität, oder/und in unterschiedlicher Länge des Heterochromatinabschnittes. In allen Zellen des gleichen Individuums, wie auch nach der geschlechtlichen Weitergabe sind diese Varianten relativ stabil (BUCKTON et al. 1976, ROBINSON et al. 1976).

Alle Variationen werden nur an heterochromatischen Chromosomenabschnitten beobachtet.

Obwohl die Existenz von Strukturgenen innerhalb heterochromatischer Bezirke nicht völlig ausgeschlossen ist (BAHR 1977, COMINGS 1978), geht man gegenwärtig davon aus, daß das Heterochromatin frei von genetischen Informationen ist (SCHNEDL 1971b, 1974, GERAEDTS et al. 1974, MÜLLER und KLINGER 1975). Bekräftigt wird diese Annahme durch die Beobachtung, daß sich die Träger extremer Varianten durch nichts voneinander unterscheiden und eine positive oder negative Selektion nicht

beobachtet wird (MÜLLER und KLINGER 1975, siehe auch 2.5.).

Die Varianten genügen der Definition für den Polymorphismus nach E.B. FORD (1965) und werden daher als chromosomale Polymorphismen oder Normvarianten (SCHWANITZ 1977) bezeichnet.

2.4. DIE STABILITÄT NORMVARIABLER CHROMOSOMENREGIONEN

Die Entstehung von Normvarianten wird auf Bruchereignisse, Duplikationen und Rekombinationen (HANSMANN 1976), sowie ungleiches crossing-over zurückgeführt (PEARSON et al. 1973, CRAIG-HOLMES et al. 1973, 1975). Helligkeitsvarianten scheinen von der Anordnung der Basensequenz abzuhängen (COMINGS 1978), wobei noch nicht entschieden ist, ob sich mehr (SUMNER 1977), oder gleich viel des Fluorochroms (HATFIELD et al. 1975) an die DNS bei verändertem Packungsgrad lagert.

Im allgemeinen rechnet man mit einer hohen Stabilität der entstandenen chromosomalen Polymorphismen innerhalb desselben Individuums und bei seiner Weitergabe an die nächste Generation (ROBINSON et al. 1976).

Sowohl innerhalb eines Individuums, als auch in der in vitro Kultur von Fibroblastenzellen können HOEHN et al. (1977) keine Änderung der Normvarianten mit der C-Färbung dokumentieren.

CRAIG-HOLMES et al. (1973) stellen dagegen lediglich für die C-Bänder des Chromosoms Nr. 2 eine solche Stabilität fest. Sie beobachten bei Familienuntersuchungen annähernd 10 % de novo entstandene Normvarianten der C-Bänder (CRAIG-HOLMES et al. 1975), die in der Elterngeneration nicht vorhanden waren, sowie Mosaik der Varianten. Eine Stabilität der Normvarianten in der Zellkultur konnte nicht gesichert werden. Es kann sich hierbei um artifizielle Variationen als Folge verschiedener Spiralisierungsgrade bei der Präparation handeln, doch lassen sich auch strukturelle und biologische Änderungen nicht ausschließen (CRAIG-HOLMES et al. 1973, 1975).

Auch SCHWANITZ (1977) berichtet von de novo entstandenen Normvarianten in 0,9 % nach Fluoreszenzfärbung und in 2 % der Y-Chromosomen.

ROBINSON et al. (1978) beschreiben einen Fall mit Verlust der hellen Intensität eines Satelliten des Chromosoms Nr. 21 bei QFQ-Färbung. Von GIMELLI et al. (1976) stammt die Beobachtung eines "jumping satellite" von einem normalen Chromosom Nr. 22 auf ein transloziertes Chromosom Nr. 10/22 der nächsten Generation, sowie ein Zurückspringen des hell fluoreszierenden Satelliten auf das normale Chromosom Nr. 22 in der Folgegeneration. Diese Änderungen in den variablen Regionen der Chromosomen werden als Resultate von ungleichem crossing-over, sowie prämeiotischer Translokation gesehen. Daß die heterochromatischen Regionen besonders anfällig für Bruchereignisse sind, weist HANSMANN (1976) nach.

Einige Autoren haben Häufigkeitsunterschiede zwischen männlichen und weiblichen Individuen beobachtet (COURT BROWN 1967, WALZER et al. 1969, ZANKL und ZANG 1971, MIKELSAAR et al. 1973, 1975), andere jedoch bestreiten dies (GERAEDTS und PEARSON 1974, ROBINSON et al. 1976).

Die unterschiedliche Häufigkeit bestimmter Normvarianten in verschiedenen ethnischen Gruppen wurde beobachtet (STARKMAN und SHAW 1967, LUBS und RUDDLE 1971, MÜLLER und KLINGER 1975, YAMADA et al. 1978, VERMA 1981).

Bei der klinisch-diagnostischen Verwendung von Normvarianten muß daher mit einer möglichen Instabilität sowohl innerhalb eines Individuums, als auch bei der Weitergabe an die Folgegeneration gerechnet werden.

2.5. CHROMOSOMALE NORMVARIANTEN UND GENETISCHE EFFEKTE

Zur Zeit lassen sich keine Anhaltspunkte dafür finden, daß heterochromatische Chromosomenabschnitte genetische Informationen enthalten (MÜLLER und KLINGER 1975, SCHNEIDL 1974). Unterschiede in der Ausprägung von Normvarianten haben daher keinen nachweisbaren Einfluß auf

ihren Träger, es gibt keinen Hinweis auf selektive Effekte (GENEST 1972, GENEST und LEJEUNE 1972).

Eine Geschlechts- und Altersspezifität ist nicht nachweisbar (SCHNEDL 1971b).

Phänotypische Wirkungen polymorpher Strukturen werden deshalb allgemein verneint (SCHNEDL 1974, GERAEDTS und PEARSON 1974, MÜLLER und KLINGER 1975).

Für das Fehlen wichtiger genetischer Informationen im Heterochromatin ist die folgenlose, vollständige Deletion des fluoreszierenden, heterochromatischen Y-Anteils ein eindrucksvolles Beispiel (TISHLER et al. 1972, McINTYRE et al. 1974, PRIEST 1980).

Das Auftreten von sekundären Konstriktionen, den nichtfluoreszierenden Größenvarianten der Chromosomen Nr. 1, 9 und 16, kann durch eine Duplikation im Bereich des constitutiven Heterochromatins erklärt werden (TÜÜR et al. 1974, HANSMANN 1976, LOBITZ et al. 1972, KIM 1973).

Obwohl Duplikationen mit einer Vermehrung von DNS verbunden sind, stellen TÜÜR et al. (1974) keinen Zusammenhang zwischen dem Auftreten von sekundären Konstriktionen des Chromosoms Nr. 1 (1qh+) und pathologischen Merkmalen bei deren Trägern fest. Gestützt wird diese Aussage durch die Tatsache, daß in der Literatur die Häufigkeit von Trägern mit 1qh+ mit 0,2 % - 9 % angegeben wird, wobei keine Beziehung zwischen dem Auftreten von Normvarianten und phänotypischen Auffälligkeiten hergestellt werden kann (TÜÜR et al. 1974, NIELSEN et al. 1974a, FERGUSON-SMITH et al. 1975, BUCKTON et al. 1976).

Bei Normvarianten des Chromosoms Nr. 16 (16qh+) wurde keine erhöhte Sterblichkeit bei Neugeborenen nachgewiesen (NIELSEN et al. 1974b). Es bestand auch kein Zusammenhang mit möglichen Mißbildungen.

Spezifische pathologische Wirkungen der Normvarianten sind nicht nachgewiesen worden (TISHLER et al. 1972, TÜÜR et al. 1974, GARDNER et al. 1974, McINTYRE et al. 1974, PRIEST 1980).

Es ist aber nicht auszuschließen, daß Normvarianten Chromosomenaberrationen begünstigen (LUCIANI et al. 1968, GARDNER et al. 1974, HALBRECHT und SHABTAI 1976, ROBINSON und NEWTON 1977, ZANKL 1974, MIKELSAAR et al. 1975).

HALBRECHT et al. (1976) vermuten, daß Normvarianten zwar nicht direkt Mißbildungen bewirken, jedoch das Risiko des Auftretens einer solchen durch ihre Gegenwart erhöhen, indem sie beispielsweise vermehrt Non-disjunction der Chromatiden oder Chromosomen induzieren.

LUCIANI et al. (1968) beschreiben einen Fall von Doppelsatelliten der D-Gruppe, bei dem sich trotz der Verdoppelung chromosomalen Materials keine Zuordnung zu den beobachteten Anomalien treffen läßt. Sie schließen aber anhand von Beispielen aus der Literatur nicht aus, daß Chromosomenaberrationen durch die Verdoppelung der Satelliten induziert werden können.

ROBINSON und NEWTON (1977) beobachten für das DOWN-Syndrom einen signifikanten Anstieg von vergrößerten Satelliten der Chromosomen Nr. 21 bei den Mongoloiden. Sie vermuten hier einen ursächlichen Zusammenhang. Vorstellungen über die Begünstigung von Non-disjunction durch ungewöhnliche Satelliten haben MARKOVIC et al. 1970, DE GROUCHY et al. 1964 und HAHNEMANN et al. 1973, ZANKL 1974, MIKELSAAR et al. 1975 zur Diskussion gestellt.

Die ungleiche Verteilung von Strukturgenen auf Euchromatin und Heterochromatin wird durch die Tatsache unterstrichen, daß Aneuploidien vor allem von den spät replizierenden, heterochromatinreichen Chromosomen Nr. 13, 18 und 21 vorkommen (YUNIS 1965, COURT BROWN 1967, BOUE et al. 1976, HAGEMEIJER et al. 1977, KORENBERG et al. 1978a). HAGEMEIJER et al. (1977) unterscheiden sogar eine schwere Form des DOWN-Syndroms bei Trisomie des nicht polymorphen, QFQ-blassen, kurzen Armanteiles von einer nur mäßige Syntome hervorrufenden Trisomie des bei QFQ-Färbung hellen, langen Armes des Chromosoms Nr. 21.

Ein Zusammenhang könnte zwischen dem Auftreten von Malignomen und Normvarianten der Chromosomen Nr. 1 und 9 bestehen. Mit Zytostatika unbehandelte Patienten weisen eine erhöhte Rate von 1qh+/- bzw. 9qh+/- Normvarianten auf. Nicht signifikant ist dagegen das Auftreten von Normvarianten der D- und G-Gruppe mit Satellitenvergrößerungen und verlängerten Satellitenstielen, sowie sekundären Konstriktionen der Chromosomen Nr. 16 in Malignomen (SHABTAI und HALBRECHT 1979).

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß die heterochromatischen, normvariablen Chromosomenabschnitte keine genetische Bedeutung haben, daß jedoch die Ausprägung der Normvarianten einen Einfluß auf Vorgänge innerhalb des Zellkerns nehmen können.

2.6. KLINISCH-DIAGNOSTISCHE BEDEUTUNG DER NORMVARIANTEN

In einer Reihe von Fällen ist der Nachweis von Normvarianten eines Karyotyp erwünscht. So läßt sich mit ihm meistens eine Unterscheidung zwischen mütterlichen und fetalen Zellen in dem Fruchtwasser treffen (HAUGE et al. 1975, ALFI 1975).

Ebenso kann die Klärung der Frage nach der Herkunft einzelner Zellen/Organe bei XX/X0-Chimären mit normalem Phänotyp gelingen (SPERLING et al. 1974).

Auch bei der Prüfung der Eignung von Zwillingen kann durch den Vergleich chromosomaler Normvarianten an Sicherheit gewonnen werden (McCRACKEN et al. 1978).

Besondere Verwendung finden Normvarianten bei der Suche nach Chromosomen menschlichen Ursprungs in Hybridzellkulturen, da nur die Chromosomen höherer Primaten fluoreszierende Varianten aufweisen (PEARSON et al. 1973).

Die Herkunft des zusätzlichen Chromosoms nach Non-disjunction kann durch den Vergleich der Polymorphismen des Kindes mit denen seiner Eltern geklärt werden (WAGENBICHLER et al. 1976, ROBINSON et al. 1973, HARA und SASAKI 1975).

Eine wichtige Rolle spielt die Feststellung von Normvarianten bei der Vaterschaftsbegutachtung (SCHWINGER 1974). Allein die eindeutig erkennbaren Varianten ergeben eine Ausschlußwahrscheinlichkeit von 70 % (SCHNEDL 1974).

Die angeführten Verwendungsmöglichkeiten chromosomaler Polymorphismen beruhen auf der Annahme, daß die polymorphen Regionen jeweils als Ganzes im Sinne eines mendelschen Erbganges weitergegeben werden (SCHNEDL 1971b, CARNEVALE et al. 1976) und bei der geschlechtlichen Weitergabe unverändert bleiben.

Zur Zeit ist jedoch noch ungeklärt, wie stabil Normvarianten im Karyotyp sind (siehe Kapitel 2.4.). Ebenso ist der Begriff der mendelschen Weitergabe von Normvarianten (SCHNEDL 1974, MÜLLER und KLINGER 1975) nur mit dem Hinweis zu akzeptieren, daß polymorphe Regionen nicht gleichsam Allelen weitervererbt werden, sondern Strukturvariationen während der Meiose unterworfen sein können.

Das Muster und die Ausprägung der Normvarianten ist jedoch für einen Karyotyp meist so charakteristisch (MÜLLER et al. 1975), daß trotz des Auftretens von instabilen Varianten die Zuordnung eines Karyogramms zu einer Person mit bereits bekanntem Karyogramm keine Schwierigkeiten bereitet.

3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1. MATERIAL

Von 1225 pränatalen Chromosomenanalysen, die zwischen Februar 1974 und Februar 1981 am Institut für Humangenetik und Anthropologie der Universität Erlangen-Nürnberg durchgeführt wurden, waren 450 zusätzlich mit Hilfe des QFQ-Färbeverfahrens dokumentiert worden.

Es handelt sich dabei ausschließlich um Metaphasen von Zellen, die durch Amniozentese nach der 14. Schwangerschaftswoche gewonnen worden waren.

Die Auswahl der untersuchten Individuen stand in keinem Zusammenhang mit dem Auftreten von Normvarianten. Anlaß der Amniozentese war in 76,6 % der Fälle ein Alter der Graviden von über 37/38 Jahren, in 8,9 % das familiäre Vorkommen einer Trisomie und in 17,1 % andere Indikationen (Tabelle 1).

Indikationen zur Chromosomenanalyse nach Amniozentese

(1977-1981, Inst. f. Humangenetik u. Anthropologie der Universität Erlangen-Nürnberg)

158	Alter der Graviden	1	dyssegmentaler Zwergwuchs
26	Mongolismus bei eigenen Kindern	1	V.a. Duchenne
17	Mongoloide in der Familie	1	neurale Dysraphie
2	Trisomie 18 bei eig. Kind	1	Hydrocephalus
1	Klinefelter bei eig. Kind	3	Anencephalus früherer Kinder
4	Trisomie d. Mutter bekannt	7	Aborte und Totgeburten
1	Inversion b. Vater bekannt	1	Gangliosidose Tay-Sachs
1	Chrom.-aberrat. b. Vater	1	Hyperglycinämie
2	Verdacht auf Mißbildung	1	AGS Syndrom in d. Familie
1	V.a. Meningocele	2	Diabetes mell. d. Mutter
4	Meningocele beim Geschwister	1	Haemophilie A eines Elter
1	Meningocele b. Mutter	1	Medikamenteneinnahme
6	Spina bifida früherer Kinder	1	Herpes zoster d. Mutter
3	Spina bl. in d. Familie	1	Strahlenbelastung
2	Spina bl. bei d. Mutter	1	V.a. Schrumpfnieren
7	Mißeildungen früherer Kinder	3	Hydranion
3	Behinderung in d. Familie	1	Consanguinität d. Eltern
1	Gastrochisis früherer Kinder	2	psychische Indikation

Tab. 1: Zum Teil wurde die Amniozentese durch mehrere Indikationen begründet

(475 Indikationen bei 450 durchgeführten Chromosomenanalysen)

3.2. METHODE

3.2.1. HERSTELLUNG DER CHROMOSOMENPRÄPARATE

Das Prinzip der Kultivierung und Präparation von Amnionzellen ist bei WOLF (1974) beschrieben.

Die Chromosomen wurden mit Quinacrin Mustard nach dem Verfahren von CASPERSSON (1970a) gefärbt und im Ultraviolettlicht durch Auflicht-illumination betrachtet. Bei besonderen Fragestellungen oder bei Nachuntersuchungen auch der Eltern/Verwandten des Feten kamen modifizierte Darstellungsmethoden der C-Bänderung (SUMNER 1972), der G-Bänderung (SEABRIGHT 1971) und der Ag-NOR-Färbung (BLOOM und GOOD-PASTURE 1976, modifiziert nach LAU und ARRIGHI 1977) zur Anwendung.

Die Beurteilung der Normvarianten erfolgte anhand des ausgeschnittenen und nach der Pariser Nomenklatur (1971) geordneten Karyotyps. Es wurde auf Varianten folgender Chromosomenabschnitte geachtet: 3cen, 4cen, 13cen, 13sat, 14p, 14sat, 15p, 15sat, 21p, 21sat, 22p, 22sat und der distale Anteil des langen Armes von Y.

Zusätzlich wurde versucht, auch die bei QFQ-Färbung nicht fluoreszierenden, heterochromatischen Abschnitte der Chromosomen Nr. 1, 9 und 16 zu beurteilen.

Da es sich um die Dokumentation von Amnionzellen handelt und ungefärbte Präparate nicht mehr zur Verfügung stehen, konnten bei Präparaten von nicht ausreichender Qualität nur ganz selten neue Präparate angefertigt werden. Um dieser Tatsache Rechnung zu tragen, erfolgte die Beurteilung der Normvarianten an dem jeweils besten Karyogramm unter Zuhilfenahme aller vorhandenen Bilder.

3.2.2. Kriterien zur Beurteilung der Normvarianten nach Größe und Intensität der Fluoreszenz

Eine Variante wurde bei den Chromosomen Nr. 3, 4, 13, 14, 15, 21 und 22 angenommen, wenn die Fluoreszenz des zu beurteilenden Chromosomenabschnittes stärker zu sein schien, als im subjektiv gefundenen Durchschnitt.

Beurteilt wurden die Zahl und die Art chromosomaler Normvarianten eines Feten, nicht aber die Zahl der Normvarianten jeder einzelnen dokumentierten Metaphase. Der Notierung der gefundenen Normvarianten lag der Vorschlag der Pariser Nomenklatur von 1971/Supplement 1975 zugrunde. Er wurde für die Beurteilung der Helligkeit chromosomaler Normvarianten übernommen.

Tabelle 2:

Kriterien zur Beurteilung der Helligkeit von Normvarianten

1	negativ (keine oder fast keine Fluoreszenz)
2	blaß (wie der distale Abschnitt auf 1p)
3	mittel (wie die zwei breiten Bänder auf 9q)
4	intensiv (wie die distale Hälfte auf 13q)
5	brilliant (wie das distale Yq)
0	keine Beurteilung

Die Kriterien zur Beurteilung der Größe von Normvarianten sind einem Vorschlag von OKA et al. (1977) entnommen:

Tabelle 3:

Kriterien zur Beurteilung normvariabler Regionen (QFQ-Färbung)

Kriterien für variable Regionen der Chromosomenarme		Kriterien für Normvarianten der Satellitenregion
sehr klein (scheinbar nicht vorhanden)	1	sehr klein (nicht zu beobachten)
klein (0.25 x 18p)	2	klein (kaum zu beobachten)
mittelgroß ($\leq 0.5 \times 18p$)	3	mittelgroß ($\leq 0.25 \times 18p$)
groß ($\leq 1.0 \times 18p$)	4	groß ($\leq 0.5 \times 18p$)
sehr groß ($\geq 1.0 \times 18p$)	5	sehr groß ($\geq 0.5 \times 18p$)
keine Beurteilung	0	keine Beurteilung

Sowohl die Größe, als auch die Helligkeit der Normvarianten wurde subjektiv im Vergleich mit den Helligkeitsgraden aus der gleichen Metaphase bestimmt.

Es kamen keine instrumentellen Hilfsmittel bei der Bestimmung von Größe und Helligkeit zur Anwendung.

Die Größe der sekundären Konstriktionen der Chromosomen Nr. 1, 9 und 16 wurde subjektiv im Vergleich mit dem jeweils homologen Chromosom bestimmt und als h+ bzw. h- notiert.

Als Längenvarianten des Y-Chromosoms wurden zusätzliche bzw. eine fehlende Banden auf dem langen Arm gewertet.

4. ERGEBNISSE

Es waren insgesamt 1043 Karyogramme angefertigt worden, was einem Durchschnitt von 2,3 Karyogrammen pro untersuchtem Feten entspricht (Tabelle 4).

Bei den 450 Feten wurden 747 Normvarianten verschiedener Größen und Helligkeiten gefunden, d.h. durchschnittlich 1,66 Normvarianten je Foetus.

Die Tabelle 5 gibt an, wie häufig ein oder mehrere Normvarianten pro untersuchtem Feten beobachtet wurden.

Tabelle 4 :

Zahl der ausgewerteten Karyogramme

Karyogramme pro Analyse	Analysen n	N
1	23	23
2	320	640
3	63	189
4	34	136
5	6	30
6	3	18
7	1	7
Σ	450	1043

Tabelle 5 :

Registrierte Normvarianten
(NV) pro untersuchten Foetus

NV pro Foetus	Feten n	N
0	88	0
1	146	146
2	117	243
3	54	162
4	27	108
5	16	80
6	0	0
7	0	0
8	1	8
9	1	9
Σ	450	747

Bei 450 Feten wurden in den je 900 homologen Chromosomen nach Normvarianten gesucht. Aus Tabelle 6 ist zum einen zu ersehen, bei wievielen Feten Normvarianten eines Chromosoms gefunden wurden, zum anderen, wie häufig die jeweilige Variante im gesamten Chromosomenpool beobachtet wurde.

Bei 54,2 % aller Feten kamen Normvarianten des Chromosoms Nr. 3 vor. Es folgen in der Häufigkeit des Auftretens die Normvarianten der Chromosomen Nr. 13 (37,1 %), Nr. 21 (13,3 %), Nr. 15 (12,2 %), Nr. 9 (11,8 %), Nr. 22 (11,3 %), Nr. 14 (9,1 %), Nr. 4 (6,7 %), Nr. 16 (5,8 %), Y (1,1 %) und Nr. 1 (0,7 %).

In Tabelle 6 wurde unterschieden, ob der polymorphe Abschnitt eines Chromosoms nur auf einem der Homologen, oder auf beiden vorkam.

Bezieht man die hier gefundene Häufigkeit der Normvarianten menschlicher Chromosomen auf die Gesamtzahl aller gleichnamigen Chromosomen, so steht das Chromosom Nr. 3 mit 35,1 % an der Spitze, gefolgt vom Chromosom Nr. 13 (24,4 %), Nr. 21 (7,4 %), Nr. 15 (6,7 %), Nr. 22 (6,1 %), Nr. 9 (5,9 %), Nr. 14 (5,3 %), Nr. 4 (3,7 %), Nr. 16 (2,9 %) und Nr. 1 (0,3 %).

Gefunden wurden weiterhin 5 (0,5 %) verlängerte Satellitenstiele und 3 (0,3 %) Doppelsatelliten akrozentrischer Chromosomen.

Bei einem Feten (0,2 %) wurde ein Extrachromosom als Marker gefunden. Es fanden sich außerdem eine (0,1 %) perizentrische Inversion des Chromosoms Nr. 3 und zwei (0,2 %) perizentrische Inversionen des Chromosoms Nr. 9.

Unter den 450 untersuchten Feten waren vier Zwillingspaare. Bei einem Paar (FW 1154 A/B) konnten die Karyogramme wegen schlechter Qualität nicht ausgewertet werden. Die chromosomalen Polymorphismen stimmten in zwei Fällen (FW 1189 A/B, FW 1192 A/B) überein, so daß Eineiigkeit angenommen werden kann, in einem Fall (FW 966 A/B) unterschieden sie sich.

Verteilung und Anzahl der Normvarianten in vorliegender Untersuchung :

Tabelle 6 :

Zahl der Feten mit Normvarianten				Poly- phismus auf Chromosom Nr.	Zahl der normvariablen Chromosomenregionen			
N		%			N		%	
172 72	244	38,2 16,0	54,2	3 cen+ 3 cen†	172 144	316	19,1 16,0	35,1
27 3	30	6,0 0,7	6,7	4 cen+ 4 cen†	27 6	33	3,0 0,7	3,7
77 45 37 8	122 45	17,1 10,0 8,2 1,8	27,1 37,1 10,0	13 cen+ 13 cen† 13 sat+ 13 sat†	77 90 37 16	167 220	8,6 10,0 4,1 1,8	18,6 24,4 5,9
3 31 7	38	0,7 6,9 1,6	9,1	14 p+ 14 sat+ 14 sat†	3 31 14	48	0,3 3,4 1,6	5,3
0 50 5	55	0,0 11,1 1,1	12,2	15 p+ 15 sat+ 15 sat†	0 50 10	60	0,0 5,6 1,1	6,7
1 52 7	59	0,2 11,6 1,6	13,3	21 p+ 21 sat+ 21 sat†	1 52 14	67	0,1 5,8 1,6	7,4
1 46 4	50	0,2 10,2 0,9	11,3	22 p+ 22 sat+ 22 sat†	1 46 8	55	0,1 5,1 0,9	6,1
3		0,7		1 qh +	3		0,3	
53		11,8		9 qh +	53		5,9	
24 2	26	5,2 0,4	5,8	16 qh + 16 nh -	24 2	26	2,7 0,2	2,9
1 2 2		0,2 0,4 0,4	1,1	Y q + Y q - Y dist.				

+ Polymorphismus nur eines Homologen

† Polymorphismus bei beiden Homologen

Für jede durch Größe und Helligkeit/Intensität charakterisierbare Normvariante wurde ermittelt, wie häufig sie durch die einzelnen Vergleichskriterien beschrieben worden war (Tabelle 7).

Tabelle 7 :

Differenzierung der gefundenen Polymorphismen nach Größe und Helligkeit/Intensität

Chromosom		Intensität					Σ
3 cen		1	2	3	4	5	
Größe	1	-	-	-	-	-	0
	2	-	-	4	43	12	59
	3	-	-	18	102	37	157
	4	-	-	2	44	40	86
	5	-	-	1	4	9	14
Σ		0	0	25	193	98	316

Chromosom		Intensität					Σ
14 sat/cen		1	2	3	4	5	
Größe	1	-	-	-	-	-	0
	2	-	2	5	3	-	10
	3	-	-	4/1	5/2	1	13
	4	-	-	6	11	6	23
	5	-	-	-	1	1	2
Σ		0	2	16	22	8	48

Chromosom		Intensität					Σ
4 cen		1	2	3	4	5	
Größe	1	-	-	4	-	-	4
	2	-	-	3	7	2	12
	3	-	-	6	5	3	14
	4	-	-	1	1	1	3
	5	-	-	-	-	-	0
Σ		0	0	14	13	6	33

Chromosom		Intensität					Σ
15 sat		1	2	3	4	5	
Größe	1	-	-	-	-	-	0
	2	-	-	6	6	1	13
	3	-	-	5	6	3	14
	4	-	-	5	15	4	24
	5	-	-	1	4	4	9
Σ		0	0	17	31	12	60

Chromosom		Intensität					Σ
13 cen		1	2	3	4	5	
Größe	1	-	-	-	-	1	1
	2	-	-	7	34	8	49
	3	-	1	8	57	6	72
	4	-	1	2	32	9	44
	5	-	-	-	-	1	1
Σ		0	2	17	123	25	167

Chromosom		Intensität					Σ
21 sat/cen		1	2	3	4	5	
Größe	1	-	-	3	0/1	-	4
	2	-	-	2	3	-	5
	3	-	-	4	14	1	19
	4	-	2	11	9	4	26
	5	-	1	2	6	4	13
Σ		0	3	22	33	9	67

Chromosom		Intensität					Σ
13 sat		1	2	3	4	5	
Größe	1	-	-	1	-	-	1
	2	-	-	7	1	1	9
	3	-	-	4	9	1	14
	4	-	-	6	10	4	20
	5	-	-	1	5	3	9
Σ		0	0	19	25	9	53

Chromosom		Intensität					Σ
22 sat/cen		1	2	3	4	5	
Größe	1	-	-	-	1	-	1
	2	-	-	2	3	-	5
	3	-	-	9	5/1	1	16
	4	-	-	8	9	6	23
	5	-	-	3	5	2	10
Σ		0	0	22	24	9	55

5. DISKUSSION

5.1. BEURTEILUNGSKRITERIEN DER NORMVARIANTEN

Bei der Verwendung von QFQ-gefärbten Präparaten lassen sich vor allem Varianten der Chromosomen Nr. 3, 4, 13, 14, 15, 21, 22 und Y beobachten. Man unterscheidet bei diesen Chromosomen Varianten

- a) der Größe
- b) der Helligkeit/Intensität der Fluoreszenz.

Dagegen lassen sich bei den Chromosomen Nr. 1, 9 und 16 bei QFQ-Färbungen nur Varianten der Größe erkennen. Ihnen fehlt ein stärkerer Kontrastunterschied an den Rändern der heterochromatischen Zonen, um diese gut abgrenzen zu können.

5.1.1. BEURTEILUNG DER GRÖSSENVARIANTEN

Chromosomen Nr. 3, 4, 13, 14, 15, 21, 22:

Die derzeit gültige Nomenklatur (PARIS NOMENCLATURE 1971/SUPPLEMENT 1975) schlägt für Größenvarianten eine Unterteilung in sechs Klassen vor, die durch Ziffern von 0 bis 5 gekennzeichnet sind (Tabelle 9).

Tabelle 9:

Kriterien zur Beurteilung der Größe von Normvarianten

1	sehr klein
2	klein
3	mittelgroß
4	groß
5	sehr groß
0	keine Beurteilung

Für diese Klassen ist die Größenbeurteilung der Normvarianten vom jeweiligen Autor abhängig. VERMA und LUBS (1975) schlagen deshalb als Bezugsgröße für Normvarianten den kurzen Arm des Chromosoms Nr. 18 aus der gleichen Metaphase vor, da nach ihrer Ansicht in der Literatur keine Hinweise auf eine häufige Variabilität zu finden sind.

Der vorliegenden Untersuchung wurde eine von OKA et al. (1977) nach den Vorschlägen VERMA's modifizierte Methode zur Größenbestimmung zugrunde gelegt. Sie verlangt nicht wie bei VERMA und LUBS unterschiedliche Beurteilungskriterien für die Variablen der Chromosomengruppen D und G, sondern differenziert nur nach Normvarianten auf den Chromosomenarmen und auf Satelliten (Tabelle 3). Mit ihr wurden auch die variablen Abschnitte der Chromosomen 3 und 4 beurteilt (Tabelle 3, siehe Kapitel 3.2.2.).

Chromosom Nr. 1, 9 und 16:

Die für sekundäre Konstriktionen der Chromosomen Nr. 1, 9 und 16 vorgeschlagenen Vergleichskriterien, aufbauend auf dem kurzen Arm des Chromosoms Nr. 16 (16p) (PATIL und LUBS 1977, FUNDERBURK 1980), wurden nicht angewandt.

Ein Grund dafür ist, daß ausschließlich QFQ-gefärbte Präparate ausgewertet wurden, in denen sich die sekundären Konstriktionen nicht exakt abgrenzen lassen.

Häufig werden Längenvarianten der Chromosomen Nr. 1, 9 und 16 als + oder - Variante bei einer Abweichung des Chromosoms um $\pm 25\%$ der Länge des homologen Partners gewertet (McKENZIE und LUBS 1975). Es liegen jedoch keine Gründe vor, weshalb gerade eine Abweichung dieser Größenordnung eine Variante darstellen soll. Die Untersuchungen von HANSMANN (1976) lassen vielmehr darauf schließen, daß eine sekundäre Konstriktion aus Vielfachen der normalen Chromosomenregion besteht. Normvarianten der Chromosomen Nr. 1, 9 und 16 setzen sich

möglicherweise aus Blöcken zusammen und variieren stufenweise, nicht aber kontinuierlich (MADAN und BOBROW 1974, MAGENIS et al. 1977).

Neben der stufenweisen Längenzunahme von sekundären Konstriktionen wird allerdings eine durch verschiedene Spiralierungsgrade des betroffenen Chromatinabschnittes hervorgerufene, kontinuierliche Längenänderung diskutiert (SCHMIADY und SPERLING 1976).

Die Verwendung aufwendiger Meßmethoden ist bei QFQ-Präparaten nicht angebracht, da höchstens 50 % aller Varianten mit sekundären Konstriktionen entdeckt werden (McKENZIE und LUBS 1975).

Es wurden daher hier Längenvarianten der Chromosomen Nr. 1, 9 und 16 nur dem subjektiven Eindruck nach als + oder - gewertet, um nicht durch scheinbar exakte Meßergebnisse bei nur z.T. erfaßten und mäßig darstellbaren Normvarianten ein Ergebnis vorzutauschen, das der Prüfung durch eine andere Methode, wie z.B. der C-Färbung, nicht standhält.

Für Varianten der sekundären Konstriktionen muß daher die für Heterochromatin spezifische Färbung (C-Bänderung) angewendet werden.

Y Chromosom:

Größenvergleiche des Y Chromosoms erfolgen üblicherweise anhand des kleinsten Autosoms der Gruppe G (LUBS und RUDDLE 1969), bzw. dem langen Arm des Chromosoms Nr. 21 (MÜLLER und KLINGER 1975) und berücksichtigen nur eine Verlängerung (+) oder eine Verkürzung (-).

Da hier die Länge des Y Chromosoms nicht für ethnische Vergleiche oder Vaterschaftsuntersuchungen verwendet werden sollte, konnte auf eine präzise Angabe der Längenunterschiede verzichtet werden. Als Normvariante wurde ein zusätzliches Band (Yq+), oder ein fehlendes (Yq-) gewertet. Varianten, bei denen nur das distale Band Yq122 fluoresziert, die Länge aber im Normbereich liegt, wurden gleichfalls erfaßt.

5.1.2. BEURTEILUNG DER HELBIGKEIT

Bei der Beurteilung der Helligkeitsvariationen polymorpher Abschnitte hat man sich im Zusatz zur Pariser Nomenklatur (1971/ SUPPLEMENT 1975) auf die angeführten Kriterien geeinigt (Tabelle 2, siehe Kapitel 3.2.2.).

Für QFQ-Färbungen ist diese Klassifikation hervorragend geeignet und wurde deshalb unverändert übernommen.

5.1.3. VERTEILUNG DER NORMVARIANTEN NACH GRÖSSE UND HELBIGKEIT

Naturgemäß lassen sich stark fluoreszierende, sowie große Normvarianten leicht erkennen und werden selten übersehen. Dagegen ist die Beurteilung kleiner und blasser Varianten ungleich schwerer.

Polymorphe Chromosomenbereiche variieren in Größe und Helligkeit. Unabhängig davon, ob das Heterochromatin kontinuierlich oder diskontinuierlich veränderlich ist, müßten die Chromosomen ausnahmslos als Varianten vorliegen, falls alle Varianten erfaßt werden könnten. Ihre Beurteilung würde alle Kriterien von 0 bis 5 umfassen. Als polymorph imponiert aber nur das, was optisch deutlich gegenüber der Umgebung abgegrenzt werden kann.

Es zeigte sich hier, daß Normvarianten der Zentromerregionen (3cen, 4cen, 13cen) hauptsächlich bei mittlerer Größe (3) und fast brillianter Intensität (3 - 4) auffallen (Tabelle 7, siehe Kapitel 4.).

Bei den Chromosomen Nr. 4 lassen sich auch kleine und nur mittelhelle Normvarianten gut beobachten, da die Umgebung der variablen Zone relativ dunkel ist und deshalb ein guter Kontrast gegeben ist.

Trotz der unterschiedlichen Vergleichsmaßstäbe für Zentromer- und Satellitenvarianten sind die meisten Varianten der Satelliten erst bei Größe 4 notiert worden, obwohl sie gegenüber ihrer Umgebung einen guten Kontrast zeigen.

Die nicht erfaßten blassen Varianten lassen sich durch die Tatsache erklären, daß Satelliten, die nicht mindestens ebenso hell wie ihr langer Arm waren, nicht als polymorph gewertet wurden.

Die sekundären Konstriktionen der Chromosomen Nr. 1, 9 und 16 lassen sich hinsichtlich der Helligkeitsunterschiede nicht beurteilen.

Es gibt keine Möglichkeit, einen "Normalzustand" des Heterochromatins zu bestimmen, von dem in polymorphen Chromosomen abgewichen wird, da sich die Träger von Normvarianten durch nichts unterscheiden.

Die Varianten verteilen sich jedoch nicht gleichmäßig auf alle Größen und Helligkeiten, sondern sind wahrscheinlich normalverteilt. Die am häufigsten gefundene Variante wird meist als Normalzustand bezeichnet (VERMA 1977), und entspricht dem subjektiv als "Norm" empfundenen Standard.

Es muß davon ausgegangen werden, daß keine Möglichkeit besteht, Normvarianten nach ihrer Größe und Helligkeit fehlerfrei zu beschreiben, solange nicht der Mechanismus des Auftretens von Normvarianten endgültig aufgeklärt ist.

Deshalb sollten Normvarianten nach Größe und Helligkeit zur Zeit nur subjektiv anhand von Vergleichskriterien aus der gleichen Metaphase beurteilt werden.

5.2. EINZELDARSTELLUNG DER GEFUNDENEN QFQ-NORMVARIANTEN

5.2.1. CHROMOSOM NR. 3



Abb. 1

Am häufigsten treten Normvarianten bei QFQ-Färbung am Chromosom Nr. 3 auf. Bei 35,1 % aller Chromosomen Nr. 3 wurde diese Variante gefunden. Der heterochromatische Abschnitt des Chromosoms Nr. 3 liegt im ersten Band der ersten Region auf dem langen Arm und grenzt an das Zentromer. Bei QFQ-Färbungen variiert er sowohl in der Größe, wie auch in seiner Helligkeit.

Wie bei allen Variationen der Fluoreszenzintensität wurde beim Chromosom Nr. 3 eine hinsichtlich des subjektiven Standards stärkere Fluoreszenz dieses Segmentes als Variante gewertet.

Der Beobachtung einer Variante des Chromosoms Nr. 3 ist, unabhängig von ihrer Ausprägung, in der pränatalen Diagnostik keine Bedeutung beizumessen. Sie erleichtert lediglich die Feststellung von perizentrischen Inversionen.

Die zentromernahe Region des kurzen Armes fluoresziert bei der QFQ-Methode vorwiegend hell. Die Folge ist, daß perizentrische Inversionen in QFQ-Präparaten nicht oder nur sehr schlecht erkannt werden können, falls eine Normvariante in der Helligkeit der umgebenden Q-Banden vorliegt oder der invertierte Abschnitt klein ist. Unterscheidet sich dagegen der variable Bereich in seiner Helligkeit deutlich von den übrigen Q-Banden, dann kann eine Inversion eindeutig festgestellt werden.

Insbesondere in der pränatalen Diagnostik stellt sich die Frage nach der Bedeutung einer Inversion.

SOUDEK et al. (1974, 1978), MÜLLER et al. (1975) und MIKELSAAR et al. (1978) fanden Inversionen des Chromosoms Nr. 3 in 0,6 % der untersuchten Fälle. SOUDEK's (1974) Vermutung, daß die Inversion (3) mit einem bestimmten Phänotyp verbunden sein könnte, wurde bisher nicht bestätigt (KAISER 1980).

KAISER (1980) weist darauf hin, daß Rekombinations-Aneusomien bei Inversionen (3) vor allem bei Inversionen mit einer Bruchstelle bei p25 beschrieben wurden. Dagegen wurden Duplikationsdefizienzen bei Inversionen 3 p13q12 noch nicht gefunden.

Ein Vergleich der in der Literatur veröffentlichten Daten läßt keinen Unterschied in der Abortrate von Trägern einer Inversion (3) erkennen. Deren Fertilität ist nur geringgradig niedriger als die von Personen mit unauffälligem Karyotyp (KAISER 1980).

Für die pränatale Diagnostik ergibt sich daraus, daß die Bruchstellen mit Hilfe der C-Heterochromatinfärbung gesichert, sowie eine Neumutation in Feten durch eine Familienuntersuchung ausgeschlossen werden müssen.

Eine perizentrische Inversion
3 p11q11 fand sich im Fall
FW 1191 (Abb. 15). Bei einer
daraufhin veranlaßten Chromoso-
menanalyse der Eltern wurde die
gleiche Inversion auch beim
phänotypisch normalen Vater
nachgewiesen.

5.2.2. CHROMOSOM NR. 4

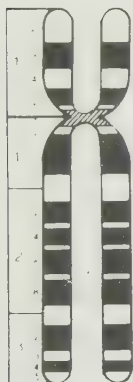


Abb. 2

Varianten des Chromosoms Nr. 4 kamen in dieser Untersuchung bei QFQ-Färbung in 3,7 % vor.

Der polymorphe Bereich liegt bei p11 und q11 und schließt das Zentromer ein.

Das Zentromer ist nicht immer sicher zu erkennen, da häufig auf der Seite des kurzen oder des langen Armes neben dem heterochromatischen Bereich eine Einschnürung beobachtet und fälschlicherweise als Zentromer angenommen wird (Abb. 3). Dadurch erhält das Chromosom Nr. 4 eine mehr oder weniger meta- bzw. akrozentrische Form und läßt eine Inversion vermuten.

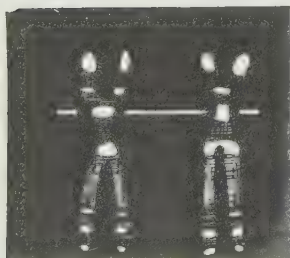


Abb. 3

Die Ausprägung der Normvariante hat im allgemeinen keinen Einfluß auf die Erkennung einer perizentrischen Inversion (4) oder einer anderen Strukturaberration.

5.2.3. CHROMOSOM NR. 13



Abb. 4

Polymorphe Regionen werden bei QFQ-Färbung

- im Zentromerbereich,
 - an der Satellitenregion,
- sowie bei der C- und Silberfärbung
- am sogenannten Satellitenstiel der Region p12 beobachtet.

Die in QFQ-Präparaten sichtbaren Polymorphismen variieren sowohl in der Größe, als auch in der Helligkeit (Abb. 13 und 14).

Die Regionen q14 bis q31 des Chromosoms Nr. 13 dienen als Vergleichsbanden zur Beurteilung fast brillianter Helligkeit polymorpher Abschnitte.

In dieser Untersuchung wurden Varianten bei 24,4 % aller Chromosomen Nr. 13 gefunden.

5.2.3.1. Normvarianten des Zentromerbereiches (13cen)

Diese Variante wurde in 18,6 % aller Chromosomen Nr. 13 gefunden. Auch in der Literatur wird sie meist als zweithäufigster Polymorphismus angegeben.

Sie imponiert vor allem durch ihre Helligkeit, weniger durch ihre Größe.

Ihr Nachweis wird dadurch erleichtert, daß der heterochromatische Bereich des Chromosoms Nr. 13 im Verhältnis zu den anderen akrozentrischen Chromosomen relativ ausgedehnt ist und das Zentromer vom

langen wie vom kurzen Arm her umgibt. Da der heterochromatische Abschnitt vom langen Arm her durch ein Q-negatives Band begrenzt wird, ist er zudem von diesem wegen des guten Kontrastes scharf abgehoben.

5.2.3.2. Normvarianten der Satellitenregion (13 p12)

Bei 5,9 % aller Chromosomen Nr. 13 wurden Varianten der Größe, wie auch der Helligkeit der Satelliten gefunden.

Die Beurteilungsmöglichkeit der Satellitengröße ist hinsichtlich ihrer Helligkeit nicht eingeschränkt, da sich die Satelliten von dem dunklen Hintergrund auch mit blassen Varianten gut abheben. Helle und brilliant-leuchtende Varianten werden ohne Schwierigkeiten erkannt.

Es sind jedoch bei QFQ-Färbung nicht fluoreszierende Satelliten bekannt, die auch nach einer C-Färbung nicht entdeckt werden (MÜLLER und KLINGER 1975). Der einzige sichere Nachweis für das Vorhandensein oder Fehlen eines Satelliten ist daher die Orcein- bzw. Giemsa-Färbung oder die Betrachtung im Phasenkontrast.

5.2.3.3. Varianten des Satellitenstieles (13 p12)

Die Region p12, der "Satellitenstiel", ist zu Normvariationen fähig, fluoresziert jedoch bei QFQ nie, so daß nur Längenvarianten gefunden werden können. Aus der Literatur ist kein Zusammenhang zwischen einer Vermehrung bzw. Verminderung chromosomalen Materials des Satellitenstieles und pathologischer Veränderungen bei deren Träger ersichtlich.

Die Satellitenstiele lassen sich deutlich durch die Silberfärbung (BLOOM and GOODPASTURE 1975) oder die Orceinfärbung markieren.

Es handelt sich bei p12 um eine achromatische Region, die von HEITZ (1929, 1931) als SAT-Strecke bezeichnet wurde.

Sie steht in engem Zusammenhang mit der NOR. Die Struktur ist noch unklar.

WACHTLER et al. (1980) grenzen mehrere Unterregionen ab und vermuten die DNA auf p11. Wahrscheinlich ist p11 stark entspiralisiert.

5.2.4. CHROMOSOM NR. 14

Bei Fluoreszenzfärbung mit QM (QFQ) des akrozentrischen Chromosoms Nr. 14 lassen sich zwei in Größe und Helligkeit variable Regionen unterscheiden:

- der kurze Arm (14 p11)
- die Satellitenregion (14 p13).



Abb. 5

Die Satellitenstiele (14 p12) fluoreszieren bei QFQ nicht oder nur äußerst blaß. Ihre Länge läßt sich aus dem Abstand der Satelliten vom heterochromatischen Abschnitt des kurzen Armes ermes- sen, oder mit Hilfe der Orcein- bzw. auch Ag-NOR-Färbung darstellen.

Hier wurden bei 5,3 % aller Chromosomen Nr. 14 Normvarianten gefunden.

5.2.4.1. Normvarianten des kurzen Armes (14 p11):

Der heterochromatische Abschnitt grenzt direkt an das Zentromer und umfaßt den gesamten kurzen Arm (Abb. 5).

Es konnten nur 0,3 % dieser Normvariante registriert werden. Eine Ursache hierfür kann die Größe des polymorphen Bezirkes sein.

5.2.4.2. Normvarianten der Satellitenregion (14 p13):

Diese Variante wurde in 5,0 % aller Chromosomen Nr. 14 gefunden. Die Möglichkeiten und Schwierigkeiten der Abgrenzung dieser Normvariante sind mit denen des Chromosoms Nr. 13 vergleichbar.

5.2.4.3. Varianten der Satellitenstiele (14 p12):

Aus der Literatur waren keine Hinweise auf eine Variabilität der sekundären Konstriktion zu ersehen. Auch in vorliegender Untersuchung wurden keine Varianten beobachtet.

Es stellt sich die Frage, ob eine außergewöhnliche Stabilität der Region 14 p12 vorliegt.

5.2.5. CHROMOSOM NR. 15



Abb. 6

Alle Regionen, die unabhängig voneinander bei QFQ-Färbung Normvarianten bilden können, befinden sich auf 15 p.

Bei 6,7 % der untersuchten Chromosomen Nr. 15 wurden Normvarianten gefunden, die sämtlich in der Satellitenregion auftraten.

5.2.5.1. Normvarianten des kurzen Chromosomenarmes (p11):

Die Beobachtung dieser Normvariante wird durch die Tatsache erschwert, daß der heterochromatische Abschnitt des kurzen Armes sich als ein nur sehr schmales Band darstellt (Abb. 6), und das Zentromer auf der Gegenseite von relativ breiten, bei QFQ-Färbung hell fluoreszierenden Banden begrenzt wird. Hell fluoreszierende Varianten des kurzen Armes können daher nicht oder nur mäßig gut vom langen Arm abgegrenzt werden. Dagegen ist bei dunklen Varianten nicht zu unterscheiden, wo der nicht fluoreszierende Satellitenstiel beginnt und die Region p11 endet.

In vorliegender Untersuchung wurden keine Varianten dieses Abschnittes gefunden, wohingegen in der Literatur bei Verwendung auch anderer Färbungen als QFQ verschiedene Normvarianten beobachtet werden.

SCHWEIZER (1981) fand, daß der kurze Arm des Chromosoms Nr. 15 mit DAPI-Distramycin selektiv markiert werden kann. Erfahrungen mit Normvarianten liegen jedoch noch nicht vor, obwohl Varianten erwartet werden dürfen. Diese Technik wurde hier nicht angewandt.

5.2.5.2. Normvarianten der Satellitenregion (15 p13):

6,7 % aller Chromosomen Nr. 15 wiesen Varianten der Satellitenregion auf.

Die Satellitenregion mit dem Satellitenstiel und dem kurzen Arm wird in der Literatur als sehr polymorph beschrieben (VERMA et al. 1977, HAYATA et al. 1977). WACHTLER und MUSIL (1980) können sogar sechs voneinander unabhängige Varianten darstellen.

Neben der hohen Variabilität werden auch Strukturveränderungen wie Doppelsatelliten und Verlängerungen der Satellitenstiele häufig beschrieben (siehe auch 5.2.7.).

5.2.5.3. Varianten des Satellitenstieles (15 p12):

Diese Variante wurde in dem dieser Arbeit zugrundeliegenden Material nur einmal gefunden (FW 1160).

Ihre Beobachtung und Ausdeutung unterliegt denselben Kriterien wie bei den anderen akrozentrischen Chromosomen.

5.2.6. CHROMOSOM NR. 21

Bei Verwendung der QFQ-Färbung lassen sich folgende variable Bezirke feststellen:



Abb. 7

- der heterochromatische, zentromer-nahe Abschnitt des kurzen Armes (21 p11),
- die Satellitenregion (21 p13) und
- der sich bei QFQ dunkel bzw. blaß darstellende Satellitenstiel (21p12).

5.2.6.1. Normvarianten des kurzen Chromosomenarmes (21 p11):

Normvarianten dieser Chromosomenregion lassen sich aufgrund der nur schmalen dunklen Nachbarregion q11 sehr schlecht erkennen.

Hier wurde nur ein Fall (FW 788) beschrieben.

5.2.6.2. Normvarianten der Satellitenregion (21 p13):

Hier wurden in 7,3 % Variationen der Größe und der Fluoreszenzintensität gefunden.

5.2.6.3. Normvarianten der Satellitenstiele (21 p12):

Zwei dieser Varianten wurden hier gefunden (FW 979, FW 1190).

5.2.7. CHROMOSOM NR. 22

Es lassen sich bei QFQ-Färbung folgende variable Regionen darstellen:

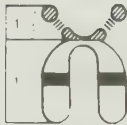


Abb.8

- der heterochromatische, zentromer-nahe Abschnitt des kurzen Armes (22 p11),
- die Satellitenregion (22 p13) und
- der sich bei QFQ dunkel bzw. blaß darstellende Satellitenstiel (22 p12).

5.2.7.1. Normvarianten des kurzen Chromosomenarmes (22 p11):

Die Beurteilung dieser Variante gelingt in QFQ gefärbten Präparaten beim Chromosom Nr. 22 leicht, da bei ihm die dem heterochromatischen Abschnitt benachbarte Region auf dem langen Chromosomenarm relativ groß ist und nicht fluoresziert. Dadurch können, im Gegensatz zum Chromosom Nr. 21, auch blasse Varianten gut abgegrenzt werden.

Diese Tatsache spiegelt sich in der Literatur wieder, in der Normvarianten des Chromosoms Nr. 22 (p11) stets häufiger erwähnt werden, als Varianten p11 auf dem Chromosom Nr. 21.

In vorliegender Untersuchung wurde nur eine Variante der Region p11 gefunden (FW 1125).

5.2.7.2. Normvarianten der Satellitenregion (22 p13):

Es wurden 6 % Variationen der Größe und der Fluoreszenzintensität dieser Region gefunden.

5.2.7.3. Normvarianten der Satellitenstiele (22 p12):

Gefunden wurde hier eine Variante (FW 1184).

5.2.8. GEMEINSAME VARIANTEN AKROZENTRISCHER CHROMOSOMEN:

Verdoppelungen und Verdreifachungen der Satelliten wie z.T. auch der dazugehörigen Satellitenstiele können bei allen akrozentrischen Chromosomen beobachtet werden.

Die Varianten stellen Strukturaberrationen mit Veränderung des DNS-Materials dar, werden aber dennoch zu den Normvarianten gerechnet, da ein Zusammenhang mit Anomalien nicht bewiesen werden kann (LUCIANI et al. 1968).

Es werden jedoch Interaktionen zwischen Satellitenvervielfachungen und dem Auftreten chromosomaler Trisomien vermutet (MARKOVIC et al. 1970, HAHNEMANN et al. 1973, DE GROUCHY et al. 1964).

Als Entstehungsursache ist ein ungleiches crossing-over während der Meiose oder eine Translokation vor der Reduktionsteilung mit Verlust der substanzverringerten Zelle denkbar.

Die Vervielfachung von Satelliten läßt sich außer durch QFQ, auch mittels Silber- oder Orcein/Giemsafärbung darstellen und erscheint im Karyogramm als Perlenkettenstruktur.

In vorliegendem Material wurden Verdoppelungen der Satelliten nur am Chromosom Nr. 15 in drei Fällen gefunden (FW 1126, FW 1192A, FW 1192B).

5.2.9. DIE ABGRENZUNG VON NORMVARIANTEN GEGENÜBER PATHOLOGISCHEN STRUKTURABERRATIONEN

Bei akrozentrischen Chromosomen sind Brüche im Bereich des Zentromers, sowie des kurzen Armes mit nachfolgender Translokation besonders häufig. Die Folge sind in der Regel zentrische Fusionen sowie "whole arm translokations".

Die Differenzierung zwischen vermeintlichen Normvarianten und genetische Effekte bedingenden Strukturaberrationen ist gerade bei der pränatalen genetischen Beratung von großer Wichtigkeit für den weiteren Verlauf der Schwangerschaft.

Eine Robertsonsche Translokation des gesamten Chromosoms Nr. 22 auf den kurzen Arm des Chromosoms Nr. 15 zeigt der Fall FW 1070 (Abb. 19).

Diese Aberration kann bei QFQ gefärbten Präparaten fälschlicherweise Anlaß zur Annahme einer extremen Normvariante sein.

FW 1072 (Abb. 18) zeigt ein großes satellitentragendes Segment des Chromosoms Nr. 21. Hier liegt keine Normvariante der Satellitenregion vor, sondern eine Translokation (7; 21).

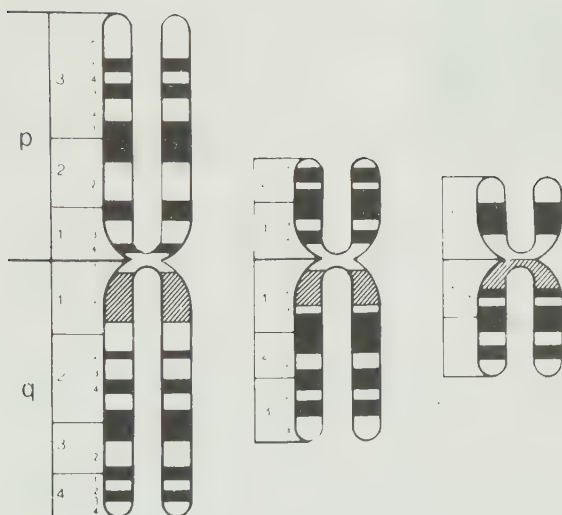
In beiden Fällen wurden die gleichen Translokationen auch bei einem der phänotypischen unauffälligen Eltern gefunden.

5.2.10. NORMVARIANTEN DER CHROMOSOMEN NR. 1, 9 UND 16

Aussagen über Ausprägung und Frequenz von Normvarianten der Chromosomen Nr. 1, 9 und 16 sind mit Hilfe von QFQ-Präparaten nur bedingt möglich (McKENZIE und LUBS 1975), da sie sich bei dieser Methode der genauen Beschreibung und Abgrenzung entziehen.

Ihre Beurteilung sollte daher nur durch die Verwendung der C-Heterochromatin-Färbung erfolgen.

Chromosomen Nr.1 , 9 und 16 :



Die polymorphen, aus konstitutivem Heterochromatin zusammengesetzten Regionen befinden sich auf dem jeweils langen Chromosomenarm, schließen direkt an das Zentromer an und unterscheiden sich in ihrem Replikationszeitpunkt vom übrigen Heterochromatin.

Sie werden ebenfalls als sekundäre Konstriktionen bezeichnet. Trotz der Namensgleichheit sind ihre Funktionen von den zur Nucleolusbildung befähigten sekundären Konstriktionen der akrozentrischen Chromosomen (NOR's) verschieden.

Die polymorphen Regionen zeigen bei QFQ-Färbung keine Fluoreszenz und daher keine Helligkeitsvarianten, sondern sind allein zu Variationen der Länge fähig.

Die Beurteilung der QFQ-Normvariante kann nur im Vergleich mit dem jeweils homologen Chromosom aus derselben Metaphase erfolgen.

Chromosom Nr. 1:

In dieser Untersuchung wurden Normvarianten dieses Chromosoms bei der QFQ-Färbung nur in 3 von 900 Chromosomen Nr. 1 gefunden.

Neben den schon beschriebenen Schwierigkeiten, sekundäre Konstriktionen in QFQ-gefärbten Chromosomen zu erfassen, kommt beim Chromosom Nr. 1 noch hinzu, daß es sich aufgrund seiner Länge oft geknickt darstellt und daher auch den lediglich abschätzenden Längenvergleich unmöglich macht.

Chromosom Nr. 9:

Längenvarianten der sekundären Konstriktion werden in der Literatur bei Verwendung von C-Heterochromatinfärbungen häufig beschrieben. Bei den QFQ-Präparaten dieser Untersuchung wurden in 5,9 % Normvarianten beobachtet.

Nach QFQ folgt beim Chromosom Nr. 9 dem breiten und hellen, distalen Teil des kurzen Armes zum Zentromer hin ein etwas blasserer, meist konisch zulaufendes Band. Die Zentromerregion beginnt erst unterhalb der Spitze dieses Bandes. Die heterochromatische Region q12 geht ohne erkennbaren Übergang in das gleichfalls nicht fluoreszierende Zentromer über. Eine Unterscheidung zwischen dem Zentromer und der sekundären Konstriktion ist daher nicht möglich (Abb. 9).

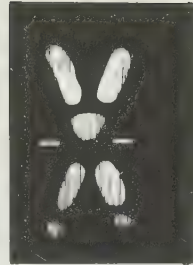


Abb. 9

Dagegen können Strukturaberrationen wie perizentrische Inversionen des Chromosoms Nr. 9 aufgrund der Lageänderung vom kurzen auf den langen Arm auch bei QFQ-Färbung gut abgegrenzt werden.

Hierbei handelt es sich meistens um Inversionen des Typs II nach HANSMANN (1976) mit Beteiligung nur eines Teils der sekundären Konstriktion.

Dieser Typ wird in Polymorphismusstudien ohne C-Färbung bei fast 10,7 % (MÜLLER et al. 1975) aller Chromosomen Nr. 9 gefunden, obwohl er nur 3,5 % aller Inversionen (9) ausmacht. Der häufigste Inversionstyp des Chromosoms Nr. 9, Typ I mit 84,5 %, wird dagegen nur in 0,6 % aller Chromosomen Nr. 9 beobachtet (KAISER 1980).

Für die pränatale Diagnostik anhand von QFQ-Präparaten bedeutet dies, daß lediglich etwa 3,5 % der Inversionen (9) wirklich erkannt werden. Im allgemeinen rechnet man mit mindestens 1 % Inversionen (9). Diese sind mit 40 % in der Gruppe der Inversionen aller Chromosomen überrepräsentiert (KAISER 1980).

Träger von Inversionen des Chromosoms Nr. 9 zeigen statistisch keine verminderte Fertilität oder erhöhte Abortrate, obwohl ein Drittel aller publizierten Inversionen (9) cytologischen Untersuchungen wegen Sterilität, Amenorrhoe oder habituellen Aborten entstammen (KAISER 1980).

Dagegen wurden von 11 bisher publizierten Fällen mit einer Trisomie 9 bzw. einem Trisomie-9-Mosaik allein 3 mit einer Inversion (9) beschrieben (Zusammenstellung bei KAISER 1980).

In der pränatalen Diagnostik ist daher zu empfehlen:

1. bei einem Polymorphismus des Chromosoms Nr. 9 auch an die Möglichkeit einer Inversion (9) des Typs II zu denken,
2. bei Verdacht auf eine Inversion (9) eine C-Färbung zur Erkennung eventueller Bruchstellen anzufertigen,
3. nach einem möglicherweise vorhandenen Trisomie-9-Mosaik zu suchen.

Eine perizentrische Inversion des Chromosoms Nr. 9 vom Typ II wurde in zwei Fällen dieser Untersuchung beobachtet (FW 874, FW 909).

Chromosom Nr. 16:

Es wurden 2,7 % qh+ und 0,2 % qh- Varianten gefunden.

CRAIG-HOLMES et al. (1973) und MCKENZIE und LUBS (1975) berichten von einem deutlichen Überwiegen der 16 qh- Varianten bei der C-Färbung. Ihre Ergebnisse konnten in vorliegender Arbeit nicht bestätigt werden.

Beide Autorengruppen beschreiben sowohl für qh+, als auch für qh- Varianten keine pathologischen Wirkungen, so daß die Fest-

stellung dieser Varianten für die Schwangerschaft ohne Bedeutung bleibt.

5.2.11. NORMVARIANTEN DER ÜBRIGEN AUTOSOMEN

An den übrigen menschlichen Autosomen sind mit anderen Färbungen ebenfalls Normvarianten beschrieben worden, doch können diese bei QFQ-Färbung nicht beobachtet werden.

5.2.12. NORMVARIANTEN DES Y CHROMOSOMS

Nach QFQ-Färbung lassen sich drei Regionen des Y Chromosoms unterscheiden:

- den schwach fluoreszierenden Arm,
- den blassen, proximalen Teil des langen Armes
und
- den brilliant fluoreszierenden distalen Bereich des langen Armes, der durch einen dunklen Abschnitt meist in zwei Teile zerfällt.

Längenvarianten des Y Chromosoms finden sich bei phänotypisch unauffälligen Männern nur im Bereich des hell fluoreszierenden Teiles (ROBINSON und BUCKTON 1971, TISHLER et al. 1972, SCHNEDL 1974) und werden unverändert (SCHNEDL 1971a, BOBROW et al. 1971) weitergegeben.



Abb. 10

Untersuchungen ergaben, daß die Länge des Y Chromosoms in den Lymphozyten eines Individuums und die Y Längen innerhalb einer Familie kaum variieren.

Daraus kann der Schluß gezogen werden, daß Längenvarianten des Y keine Kondensationseffekte während der Mitose sind und die Variante vererbt wird (UNNERUS et al. 1967, SCHNEDL 1971c). Auffallende Längenvarianten werden weniger intrafamiliär als interfamiliär gefunden (UNNERUS et al. 1967), besonders aber zwischen Angehörigen unterschiedlicher ethnischer Gruppen (COHEN et al. 1966, YAMADA und HASEGAWA 1978).

Als Ursache der Längenvarianten werden sowohl ein ungleiches crossing-over der Schwesterchromatiden, als auch Deletionen angenommen (SCHNEDL 1971a).

Ein Verlust des fluoreszierenden, heterochromatischen Abschnittes ist offenbar ohne Folge (McINTYRE et al. 1974, PRIEST 1980), sofern nicht auch eine Deletion im euchromatischen, distalen Teil des nicht fluoreszierenden Abschnittes von Yq vorliegt.

Diese Aberration wird von TIEPOLO und ZUFFARDI 1976, LANGMAID et al. 1974, TELFER et al. 1973 bei Männern mit Azoospermien bzw. Minderwuchs vermutet. Es wird auch von phänotypisch folgenlosen Aberrationen berichtet (TISHLER et al. 1972). Hier kommt es darauf an, eine Abgrenzung von Normvarianten gegenüber pathologischen Strukturveränderungen zu treffen.

Eine besondere Variante des Y Chromosoms wird gelegentlich im Zusammenhang mit einem Mosaik XO/XY beobachtet, bei dem das Y Chromosom normale Länge, aber keine Fluoreszenz zeigt (z.B. FRYNS et al. 1980). Eine befriedigende Erklärung für dieses Verhalten wurde noch nicht gegeben (BÜHLER et al. 1974, MADAN et al. 1979).

In den vorliegenden Fällen handelt es sich ausschließlich um Veränderungen des fluoreszierenden Chromosomenabschnittes. Sie stimmen

mit den in der Literatur unterschiedenen zwei Gruppen von Varianten des langen Y Armes überein:

- Verlängerungen Yq+
- Verkürzungen Yq-

Zusätzlich wurden zwei Y Chromosomen mit normaler Länge, aber vergrößertem nicht-fluoreszierenden und verkürztem fluoreszierenden Anteil des langen Armes gefunden (FW 816, FW 1200).

Yq- und Yq+ lassen sich durch Duplikationen bzw. Deletionen erklären. Die Tatsache, daß Brüche des Y Chromosoms besonders häufig proximal oder distal der Übergangsregion vom Euchromatin zum Heterochromatin auftreten, läßt sich durch das Vorhandensein zweier unterschiedlicher Satelliten - DNS - Fraktionen im Heterochromatin begründen. Diese werden bei Anwendung spezieller Färbetechniken (BrdU/FPG) am langen Arm des Y Chromosoms durch das Phänomen der lateralen Asymmetrie dargestellt. Es tritt an der Stelle des hell fluoreszierenden Teils und/oder am Übergang vom Euchromatin zum Heterochromatin auf und ist allein von der Dauer der vorangegangenen Giemsa-Färbung abhängig. Struktur und Eigenschaften der unterschiedlichen Satelliten - DNS - Fraktionen sind durch Arbeiten von LIMON et al. (1979), KUNKEL et al. (1979) und McKAY et al. (1978) aufgedeckt worden.

5.2.12.1. Yq+ :



Abb. 11

In vielen Fällen wird eine Verlängerung des Y Chromosoms beschrieben (BEER et al. 1967, SPERLING und LACKMANN 1971, KNUUTILA et al. 1972). Es ist ein relativ häufiger, intrafamiliär konstanter Polymorphismus und findet daher bei der Vaterschaftsbegutachtung Verwendung (SCHNEDL 1971c).

Alle zu einem Yq+ führenden Veränderungen finden im heterochromatischen Abschnitt statt und beruhen wahrscheinlich auf Duplikationen bzw. doppelten Duplikationen (KNUUTILA et al. 1971).

Nur in seltenen, ausgelesenen Fällen werden bei Yq+ Trägern Mißbildungen beschrieben (BEER et al. 1967, SPERLING und LACKMANN 1971). Ein Zusammenhang ist nicht bewiesen, zumal ein einheitliches Merkmalsmuster nicht ersichtlich ist (BEER et al. 1967).

Im Fall FW 659 (Abb. 16) wurde ein Yq+ gefunden.
Die gleiche Variante konnte auch bei dem phänotypisch normalen Vater nachgewiesen werden.

5.2.12.2. Yq- :

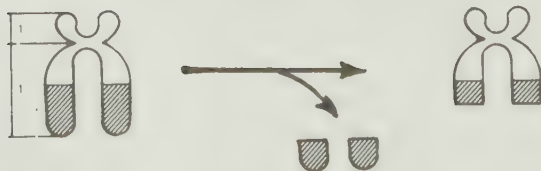


Abb. 12

Eine Verkürzung des Y Chromosoms im heterochromatischen Bereich kann durch eine Deletion/Teildeletion bedingt sein. Gelegentlich ist nur ein Rest des fluoreszierenden Abschnittes als Randsaum vorhanden. Wenn er fehlt, kann das deletierte Y Chromosom eventuell übersehen oder als Marker falsch gedeutet werden.

Da sich Polymorphismen durch fehlende pathologische Effekte auszeichnen, sind folgende fünf Fragen zu prüfen (nach McINTYRE et al. 1974):

1. Ist das Chromatin des fluoreszierenden Abschnittes genetisch inaktiv und für die normale männliche Entwicklung und Fortpflanzungsfähigkeit unbedeutend ?

BOBROW et al. (1971) zeigt, daß ein Fehlen des fluoreszierenden Y Anteiles keine phänotypischen Merkmale bedingt und deshalb keine Konsequenzen für eine normale Entwicklung zu erwarten sind.

2. Fand das Bruchereignis, falls der fluoreszierende Teil genetisch inaktiv ist, an einer Stelle statt, an der wichtige Strukturgene verloren gehen konnten ?

In einem solchen Fall können die Gengruppen für die Steuerung der Spermatogenese (TIEPOLO und ZUFFARDI 1976) und der Körpergröße (JACOBS und ROSS 1966) betroffen sein. Sind in der QFQ- oder der C-Färbung noch minimale Reste von heterochromatischem Material sichtbar, kann eine Deletion euchromatischen Materials ausgeschlossen werden.

3. Liegt bei einem phänotypisch normalen Mann eine balanzierte Translokation vor, die deletiertes, euchromatisches Material enthält ?

Die Zelllinie des Kindes kann sich aus der Keimzelle mit dem nicht balanzierten Chromosomensatz entwickelt haben. Die Folge ist eine partielle Monosomie.

4. Verfügt der Foetus im Fall einer Translokation des nichtfluoreszierenden Chromosomenabschnittes über den euchromatischen Teil oder nicht ?

Diese Frage läßt sich nur durch den Nachweis einer Translokation im kindlichen Chromosomensatz beantworten.

5. Ist es möglich, daß der fluoreszierende Abschnitt vom Y auf ein anderes Chromosom transloziert wird und dabei seine Fluoreszenz verliert ?

Diese Frage läßt sich durch die Chromosomenanalyse fetaler Zellen nur bedingt klären. Der translozierte Abschnitt müßte dann auf einem anderen Chromosom zu finden sein, oder könnte während der Meiose verloren gegangen sein.

Die Mehrzahl der Träger einer distalen Deletion (Yq-) ist phänotypisch unauffällig (BOBROW et al. 1971, MEISNER et al. 1972, PRIEST 1980), wenngleich ebenso ein Zusammenhang mit Minderwuchs (TELFER et al. 1973, LANGMAID et al. 1974), Hypospadie und Muskeldystrophie vermutet wird (MULDAL et al. 1961).

Im Falle von TELFER scheint es sich um eine extreme Deletion zu handeln, MULDAL fand in der Familie des Betroffenen auch phänotypisch gesunde Träger derselben Normvariante.

In der Literatur wird die Häufigkeit für ein Yq- Ereignis mit 1,1 bis 3,9 % angegeben. Yq- Neumutationen wurden nur sehr selten (LANGMAID et al. 1974, PRIEST 1980) beobachtet.

PRIEST (1980) wies anhand eines de novo entstandenen Yq- eine hohe mitotische Stabilität während 60 verfolgter Zellteilungen in vitro nach. Interessant wäre zu untersuchen, ob das in diesem Fall normale väterliche Y dieselbe Stabilität aufweist.

Bei zwei Yq- (FW 1136, FW 1182) konnte bei den unauffälligen Vätern gleichfalls ein Yq- festgestellt werden. An den Bruchstellen wurde bei der C-Färbung noch ein Rest Heterochromatin beobachtet. Daher ist mit einer echten Normvariante ohne pathologische Wirkung zu rechnen.

5.2.12.3. Y q122 nf / 122 f :

Anders als bei Y-Chromosomen, die durch den Verlust des heterochromatischen Abschnittes auf etwa die Hälfte ihrer ursprünglichen Länge reduziert sind, sind die Y dieser Variante normal lang. In diesen Fällen könnte der Verlust des Heterochromatins durch die Duplikation des Euchromatins ersetzt sein.

Ein nur distal fluoreszierendes Y wurde in zwei Fällen (FW 816, FW 1200) gefunden. Bei FW 816 (Abb. 17) wurde die Variante beim nachuntersuchten Vater gleichfalls nachgewiesen.

Abb. 13:

Darstellung der Variationen des Zentromers der Chromosomen Nr. 13 und 15 bei brillianter Fluoreszenz und unterschiedlicher Größe im Vergleich mit dem Chromosom Nr. 18 als Beurteilungsmaßstab (aus: YAMADA et al. 1978).

Abb. 14:

Nebeneinanderstellung der Chromosomen Nr. 3, 13, 14, 15, 21 und 22 mit brillianter Fluoreszenz der Variante, aber zunehmender Größe (aus: YAMADA et al. 1978).

Abb. 15:

Perizentrische Inversion des Chromosoms Nr. 3 beim Foetus (FW 1191) und dessen Vater.

Abb. 16:

Yq+ mit deutlich verdoppeltem, fluoreszierenden Y Abschnitt.

Abb. 17:

Lediglich distal fluoreszierende Y Abschnitte bei Vater und Sohn (FW 816).

Abb. 18 und 19:

Translokation (7; 21) beim Foetus (FW 1072) in QFQ, bei dessen Mutter in RBA und QFQ-Färbung.

- Zum Vergleich ein heller und großer Satellit (55) des Chromosoms Nr. 21 (FW 812) und eine Robertsonsche Translokation (15; 22) bei FW (1070).

Die Chromosomen sind zum besseren Größen- und Helligkeitsvergleich nebeneinander angeordnet.

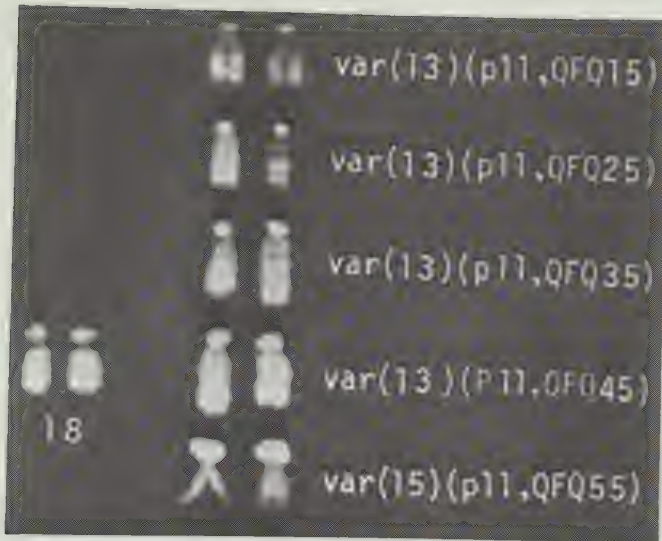


Abb. 13



Abb. 14

(Abbildungen 13 und 14 aus YAMADA et al. 1978)

Abb.15



FW 1191

Abb.16



Yq+

FW 659

Abb.17

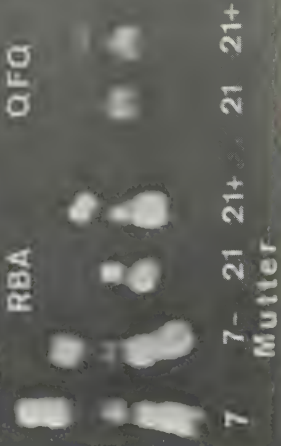


Yq 121nf

Vater

FW 816

Abb.18



RBA

QFQ

21 21+

FW 1072

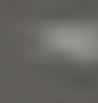
QFQ

QFQ

21sat 55

FW 812

Abb.19



trob(15;22)

FW 1070

5.3. DIE PHOTODOKUMENTATION DER QFQ-NORMVARIANTEN

Die Beurteilung der Normvarianten erfolgt üblicherweise anhand von schwarz-weiß Positivkopien. Diese werden von exemplarisch ausgewählten, im Mikroskop als geeignet bezeichneten Metaphasen angefertigt. Es wird besonders darauf geachtet, daß sich möglichst wenige Chromosomen gegenseitig überdecken. Die Chromosomenbänder sollen kontrastreich und voneinander scharf abgrenzbar sein.

In dieser Untersuchung wurden für jeden gefundenen Karyotyp im Durchschnitt 2,3 Bilder angefertigt. Die Forderung von VERMA und DOSIK (1979), mindestens 20 Metaphasen zu dokumentieren und davon die fünf besten zur Beurteilung heranzuziehen, läßt sich in der Routine nicht verwirklichen.

Die Qualität der Photoabzüge wird durch mehrere Faktoren bedingt.

Die Belichtungszeit bei der Aufnahme wird in der Regel automatisch bestimmt. Einfluß auf die Qualität der Photographie kann deshalb nur über eine gleichmäßig verlängerte oder verkürzte Belichtungszeit genommen werden und das subjektiv eingeblendete Meßfeld. Je dichter die Chromosomen im Meßfeld zusammenliegen, desto heller wird das Bild. Die Folge ist eine Abnahme der Belichtungszeit und eine blässere Darstellung der Chromosomen am Rand des Bildes.

Da die Fluoreszenz der in der Mitte des Bildabschnittes liegenden Chromosomen intensiver ist als am Rand, müßten die Entwicklungszeiten innerhalb eines Abzuges unterschiedlich sein. Dies ist aus technischen Gründen nicht möglich, so daß von einem Negativ mehrere Abzüge mit unterschiedlichen Entwicklungszeiten angefertigt werden müssen.

Erschwerend kommt hinzu, daß der Fluoreszenzfarbstoff relativ rasch verblaßt und dadurch den Helligkeitsunterschied zwischen den zentralen und peripheren Chromosomen verstärkt.

Chromosomen aus Arealen ähnlicher Güte werden ausgeschnitten und zum Karyogramm gelegt. Dabei kann es vorkommen, daß homologe Chromosomen verschiedenen Abzügen entstammen und unterschiedliche Intensität aufweisen, so daß jeder Vergleich zwischen ihnen fehlerhaft sein muß.

Nicht alle Abzüge können in dem selben Maßstab angefertigt werden, da z.T. versprengte Chromosomen mit auf den Abzug der dazugehörigen Metaphase gebracht werden müssen. Ungleiche Maßstäbe wiederum bedingen ebenso verschiedene Entwicklungszeiten des Abzuges, wie die ungleich dichte Anordnung der Chromosomen.

Da die Fluoreszenz verblaßt, muß ein Negativmaterial gewählt werden, das einerseits ausreichend empfindlich, andererseits feinkörnig genug ist, damit bei Nachvergrößerungen der Kontrast erhalten bleibt. In diesem Labor hat sich X ford PAN F (panchromatisch, 19 DIN) bewährt.

Von welcher Bedeutung die Mitarbeit des Photolabors ist, weisen OVERTON et al. (1976) eindrucksvoll nach. In der Dunkelkammer verwandeln sie ein und dasselbe Chromosom Nr. 21 mit kleinen Satelliten zu einem mit großen und hellen.

Empfehlenswert, wenn auch nicht immer durchführbar, wäre für die Photodokumentation die Herstellung möglichst vieler Bilder gleicher und verschiedener Metaphasen, die mit möglichst gleichem Vergrößerungsmaßstab und gleicher Belichtungszeit abgezogen werden müßten.

Möglich wäre bestenfalls die Vermeidung von Photoabzügen durch die Verwendung von Diafilmen bei der Photographie. Zur gemeinsamen Beurteilung könnten die Bilder auf eine Leinwand projiziert werden.

5.4. VERTEILUNG VON QFQ-VARIANTEN IN DER LITERATUR

Die meisten in der Literatur publizierten Ergebnisse über die Art und Häufigkeit von Normvarianten wurden anhand von Material gewonnen, das speziell für den Nachweis von Polymorphismen hergestellt worden war.

Die Präparation der Chromosomen kann hierbei mit größter Sorgfalt erfolgen.

Gewöhnlich werden die Metaphasen mit Quinacrin und C-gefärbt. Durch die Kombination dieser klassischen Färbemethoden lassen sich bei jedem Chromosom Normvarianten erkennen (McKENZIE und LUBS 1975). Zusätzlich dienen sie als Vergleichsmaßstab für die Beurteilung von Normvarianten, die mit Hilfe neuer Färbeverfahren gefunden wurden (OKA et al. 1977, NAKAGOME et al. 1977, WACHTLER et al. 1980).

Gelegentlich werden Längenmessungen und graphische Registrierungen der Helligkeit polymorpher Segmente verwendet, was bei der Dokumentation der gefundenen Varianten als grobe Richtgröße von Vorteil sein kann.

Gegenüber der wissenschaftlichen Auswertung von auffälligem Untersuchungsmaterial oder von selektiertem bzw. unselektiertem Patientenkollektiv ist die Feststellung von Normvarianten bei klinischer Fragestellung meist ein Nebenfund. Polymorphismen gewinnen erst dann eine besondere Bedeutung, wenn sie Chromosomenaberrationen vortäuschen.

Obwohl das dieser Untersuchung zugrunde liegende Material nicht im Hinblick auf die Feststellung von Normvarianten gewonnen und aufgearbeitet wurde, soll dennoch versucht werden, Art und Häufigkeit der gefundenen Polymorphismen mit Angaben aus der Literatur zu vergleichen (Tabelle 8).

Tabelle 8 : Literaturvergleich der Häufigkeit von Normvarianten in der Bevölkerung bei QFQ - Färbungen in % .

Normvarianten der Chromosomen- region	MOLLER KLINGER 1975		MCKENZIE 1975	SCHNEIDL 1974	YAMADA 1978	VERMA 1977		MIKELSAAR 1973 1974 1975	WACHTLER 1980	GERAEDTS PEARSON 1974	BUCKTON 1976	SCHWINGER 1976	ERLANGEN UNIVERSITÄT 1981
	*	**				QFQ	RFA						
3 cen	54,4	67,5	35,0	50	[24,6- 28,4]			64,9	++	48,4	64	47	35,1
4 cen	12,8	17,6	0		[4,0 - 4,2]			27,6		2,7	40	8,1	3,4
13 cen sat	73,8 9,8	79,7 10,8	16,9 1,9	54 14	[56,6- 57,7]	56,5	33	84,4		50	33,4 9,2	38,5 9,3	18,6 5,9
14 p sat	3,2 9,3	0 13,5	0 6,5	1 22	[21,8- 22,5]	10	38	9,9		14,3	/	4,1 7,5	0,3 5,0
15 p sat	3,2 7,4	1,4 8,1	0,6 7,1	1 12	[28,6- 29,8]	10	28	0,4	70- 80	21,5	/	4,7 9,3	0 6,7
21 p sat	3,5 16,2	5,4 17,6	0 2,6	1 28	[25,1- 29,1]	50	15,5	8		24,4	/	5,3 13	0,1 7,3
22 p sat	19,2 23,9	27,0 37,8	0 5,2	11 21	[23,5- 26,5]	10	24,5	8		21,9	2,4 14,0	9,1 19,8	0,1 6,1

Alle Untersuchungen erfolgten mit QFQ, wenn nicht anders angegeben

* Weiße

+ Frauen - Männer

** Farbige

++ Es wurden mehrere Färbemethoden verwendet

6. EMPFEHLUNG

Die Kenntnis der möglichen Normvarianten bei Verwendung der unterschiedlichen Chromosomendarstellungsverfahren ist wichtig, da eine Vortäuschung von Strukturaberrationen möglich ist.

Beim Auftreten von extrem großen oder fluoreszierenden Normvarianten empfiehlt sich daher eine von der Routine getrennte und erweiterte Untersuchung des Materials mit Hilfe der zur Verfügung stehenden Chromosomenfärbeverfahren. Dazu sollte von jeder Amnionzellkultur von vornherein eine Küvette reserviert werden.

Ebenso kann die Chromosomenanalyse der Eltern und Verwandten erforderlich sein. Kann die Variation auch bei einem phänotypisch unauffälligen Elternteil nachgewiesen werden, kommt ihr mit großer Wahrscheinlichkeit auch beim Feten keine pathologische Bedeutung bei.

Folgende Färbemethoden führen bei Unklarheiten weiter:

Normvarianten der Chromosomen Nr. 3 und 4:

Frage einer Inversion ➡ C- bzw. Giemsa-Färbung

Normvarianten der akrozentrischen Chromosomen:

Unterscheidung von Doppelsatelliten und zentrischen
Fusionen bei kurzen Satellitenstielen und großen
Satelliten ➡ Orcein bzw. Giemsa-Färbung
Ag-NOR-Färbung
Betrachtung der Metaphase
im Phasenkontrast

Normvarianten der Chromosomen Nr. 1, 9 und 16:

Frage einer Inversion ➡ C-Färbung

Diese Normvarianten lassen sich dadurch stets von
Strukturaberrationen unterscheiden.

Normvarianten des Y-Chromosoms:

Frage nach einer Verlängerung bzw. Verkürzung des
langen Armes oder einem veränderten Fluoreszenz-
verhalten



C-Färbung mit einem Vergleich
der Y-Länge von Vater und Sohn
sowie der Fluoreszenz bei QFQ-
Färbung.

Bei Verwendung anderer Färbemethoden lassen sich auch bei den üb-
rigen Chromosomen Normvarianten darstellen. In der routinemäßigen
Chromosomenanalyse werden diese besonderen Darstellungsverfahren
jedoch nicht verwendet, so daß hier auf eine Diskussion der mög-
lichen Variationen verzichtet wird.

7. ZUSAMMENFASSUNG

Art, Verteilung und Häufigkeit chromosomaler QFQ-Polymorphismen wurden in einem hinsichtlich der Normvarianten menschlicher Chromosomen unausgewählten Kollektiv bestimmt. Dazu wurden erstmals ausschließlich Chromosomen aus Zellen verwendet, die durch eine Amniozentese gewonnen worden waren.

Folgende Feststellungen konnten getroffen werden:

1. Das QFQ-Färbeverfahren eignet sich hervorragend zur Darstellung von Normvarianten menschlicher Chromosomen Nr. 3, 4, 13, 14, 15, 21, 22 und Y. Es können Varianten der Größe und der Helligkeit beobachtet werden.
2. Normvarianten der Chromosomen Nr. 1, 9 und 16 sind in QFQ-gefärbten Präparaten schlecht zu beurteilen. Zu ihrer Beschreibung sollte mindestens ein weiteres Färbeverfahren wie die C-Bänderung, verwendet werden.
Die Chromosomen Nr. 1, 9 und 16 zeigen keine Variationen der Helligkeit nach Fluoreszenzfärbung, sondern ausschließlich der Länge des variablen Abschnittes.
3. Bei 450 Chromosomenanalysen wurden 747 Normvarianten gefunden, das entspricht einem Durchschnitt von 1,66 Varianten je untersuchtem Foetus.
4. Es wurden 19 verschiedene Chromosomenorte unterschieden, an denen bei QFQ-gefärbten Präparaten chromosomale Normvarianten beobachtet werden konnten.
5. Normvarianten traten nur an denjenigen heterochromatischen Chromosomenabschnitten auf, die auch in der Literatur als variabel beschrieben werden.

6. Heterochromatische Abschnitte sind kontinuierlich, wie auch zum Teil diskontinuierlich variabel und müßten daher zu 100 % Normvarianten zeigen. Der Untersucher geht jedoch von einer subjektiven "Norm" aus, so daß nur ein Teil der Varianten registriert werden. Die Norm stimmt meist mit der am häufigsten zu findenden Ausprägung chromosomaler Polymorphismen überein.
7. Die Beurteilung der Normvarianten erfolgte im Vergleich mit zuvor definierten Bezugsgrößen aus demselben Karyogramm und konnte nur subjektiv geschehen.
Technische Hilfsmittel wurden nicht verwendet.
8. Von Bedeutung ist die Feststellung von Normvarianten bei der Einordnung der Chromosomen in den Karyotyp, bei der Unterscheidung zwischen fetalen und mütterlichen Zellen nach Amniozentese, dem Herkunftsnachweis aberrierter Chromosomen, sowie bei der Vaterschaftsbegutachtung.
9. Es ist noch nicht gesichert, wie konstant Normvarianten intra- bzw. interindividuell vorkommen. Dieser Frage konnte anhand vorliegender Untersuchung wegen der zu geringen Anzahl von dokumentierten Metaphasen nicht nachgegangen werden.
10. Da die zu untersuchenden Chromosomen aus fetalen Zellen stammten, mußte bei der genetischen Beratung der Eltern darauf Wert gelegt werden, zwischen Normvarianten und pathogenen Strukturaberrationen zu unterscheiden. Es zeigte sich, daß strukturelle Aberrationen von Polymorphismen relativ leicht durch die auffällige Größe oder Leuchtkraft der vermeintlichen Normvariante unterschieden werden können. Varianten der Satelliten akrozentrischer Chromosomen sollten jedoch durch weitere Färbemethoden, sowie eine chromosomale Nachuntersuchung der Eltern gesichert werden, damit eventuelle unbalanzierte Strukturaberrationen nicht übersehen werden.

11. Erwartungsgemäß ließen sich keine Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Normvarianten und pathogenen Effekten finden.
12. Werden Chromosomenpräparate ausschließlich mit einer einzigen Färbemethode, allein zu klinisch-diagnostischen Zwecken hergestellt und nur durch wenige Photographien dokumentiert, genügen sie nicht den Anforderungen für eine möglichst exakte wissenschaftliche Auswertung, beispielsweise der Normvarianten. Vorliegende Untersuchung zeigte aber, daß für die genetische Beratung nicht allein die Aufarbeitung des Materials von Bedeutung ist, sondern die Schlußfolgerungen, die aus einfachen Unterlagen gezogen werden, um zwischen unbedeutenden Polymorphismen und pathogenen Strukturaberrationen unterscheiden zu können.

LITERATURVERZEICHNIS

- ALFI, O., DERENCSENY, A. and DONNELL, G.: Chromosome polymorphism and prenatal diagnosis; *Lancet* I, 1253 (1975)
- BAHR, G. F.: Chromosomes and chromatin structure;
in: YUNIS, J. J. (Ed.): *Molecular structure of human chromosomes*, New York (1977), S. 143-203.
- BEER, H., PFEIFFER, R. A. und DAMMER, H.: Ein Beitrag zur Frage des sogenannten langen Y-Chromosoms beim Menschen; *Fortschritt der Medizin*, 85, Nr. 11 (1967)
- BLOOM, S. E. and GOODPASTURE, C.: An improved technique for selektive silver staining of nucleolar organizer regions in human chromosomes *Hum. Genet.* 34, 199-206 (1976)
- BOBROW, M., PEARSON, P. L., PIKE, M. C. and EL-ALFI, O. S.: Length variation in the quinacrin-binding segment of human Y chromosomes of different sizes; *Cytogenetics* 10, 190-198 (1971)
- BOUE, J., DAKETSE, M.-J., DELUCHAT, C., RAVISE, N., YVERT, F. et BOUE, A.: Identification par les bandes Q et G des anomalies chromosomiques dans les avortements spontanés; *Ann. Génét.* 19, 233-239 (1976)
- BROWN, S. W.: Heterochromatin; *Science* 151, 417-425 (1966)
- BUCKTON, K. E., O'RIORDAN, M. L., JACOBS, P. A., ROBINSON, J. A., HILL, R. and EVANS, H. J.: C- and Q-band polymorphisms in the chromosomes of three human populations; *Ann. Hum. Genet.* 40, 99-112 (1976)
- BÜHLER, E. M., BÜHLER, U. K., TSUCHIMOTO, T. and STADLER, G. R.: Non-fluoreszent Y-chromosome; *Helv. paediat. Acta* 29, 447-456 (1974)
- BURKHOLDER, G. D. and WEAVER, M. G.: DNA-protein interactions and chromosome banding; *EXP. Cell Res.* 110, 251-262 (1977)
- CALDERON, D. and SCHNEDL, W.: A comparison between quinacrine fluorescence banding and ³H-thymidine incorporation patterns in human chromosomes; *Humangenetik* 18, 63-70 (1973)
- CARNEVALE, A., IBANEZ, B. B. and DEL CASTILLO, V.: The segregation of C-band polymorphisms on chromosomes 1, 9 and 16; *Amer. J. Hum. Genet.* 28, 412-416 (1976)
- CASPERSSON, T., ZECH, L. and JOHANSSON, C.: Analysis of human metaphase chromosome set by aid of DNA-binding fluorescent agents; *Exp. Cell Res.* 62, 490 (1970 a)
- CASPERSSON, T., ZECH, L., JOHANSSON, C. and MODEST, E. J.: Identification of human chromosomes by DNA-binding fluorescent agents; *Chromosoma (Berl.)* 30, 215-227 (1970 b)
- CASPERSSON, T., ZECH, L., MODEST, E. J., FOLEY, G. E., WAGH, V. and SIMONSSON, E.: Chemical differentiation with fluorescent alkylating agents in vicia faba metaphase chromosomes; *Exp. Cell Res.* 58, 128 (1969)
- COHEN, M. M., SHAW, M. W. and MacCLUER, J. W.: Racial differences in the length of the human Y chromosome; *Cytogenetics* 5, 34-52 (1966)

- COURT BROWN, W.M.: Human population cytogenetics; North Holland Publ. Company: Amsterdam (1967)
- COMINGS, D.E.: Mammalian Chromosome structure; in: Chromosomes today, Vol. 6, Eds: de la CHAPELLE, A. and SORSA, M. Amsterdam (1977), 19-26
- COMINGS, D.E.: Mechanisms of chromosome banding and implications for chromosome structure; Ann. Review Genet. 12, 25-46 (1978)
- COMINGS, D.E. and DRETS, M.E.: Mechanisms of chromosome banding, IX. Are variations in DNA base composition adequate to account for quinacrine, Hoechst 33258 and daunomycin banding? Chromosoma 56, 199-211 (1976)
- COMINGS, D.E., AVELINO, E., OKADO, T.A. and WYANDT, H.E.: The mechanism of C- and G-banding of chromosomes; Exp. Cell Res. 77, 469-493 (1973)
- COMINGS, D.E. and AVELINO, E.: Mechanisms of chromosome banding, VII. Interaction of methylene blue with DNA and chromatin; Chromosoma 51, 365-381 (1975)
- COMINGS, D.E., KOVACS, B.W., AVELINO, E. and HARRIS, D.C.: Mechanisms of chromosome banding, V. Quinacrin banding; Chromosoma 50, 111-145 (1975 a)
- CRAIG-HOLMES, A.P., MOORE, F.B. and SHAW, M.W.: Polymorphism of human C-band heterochromatin. I. Frequency of variants; Am. J. Hum. Genet. 25, Nr. 2, 181-192 (1973)
- CRAIG-HOLMES, A.P., MOORE, F.B. and SHAW, M.W.: Polymorphism of human C-band heterochromatin. II. Family studies with suggestive evidence for somatic crossing over; Am. J. Hum. Genet. 27, 178-189 (1975)
- DARLINGTON, C.D.: Chromosome behaviour and structural hybridity in the tradescantiae; J. Genet. 21, 207 (1929)
- DURTILLAUD, B. and COVIC, M.: Etude de facteurs influencant la denaturation thermique managée des chromosomes; Exp. Cell Res. 85, 143-153 (1974)
- FERGUSON-SMITH, M.A., ELLIS, P.M., MUTCHINICK, O., GLEN, U.P., COTE, G.B. and EDWARDS, J.H.: Centromeric linkage; Cytogenet. Cell Genet. 14, 130-137 (1975)
- FORD, E.B.: Genetic Polymorphism; Cambridge (Mass.) 1965
- FRYNS, J.P., PEDERSEN, J.C., GODDEERIS, P. and van den BERGHE, H.: Non-fluorescent Y-chromosome in mixed gonadal dysgenesis with 45,X/46,XY mosaicism; Ann. Génét. 23, no. 1, 54-56 (1980)
- FUNDERBURK, S.J., KLISAK, J., SPARKES, R.S. and WESTLAKE, J.: C-band polymorphism: Comparison between trisomy 21 cases and mentally retarded controls; Am. J. Med. Genet. 5, 265-269 (1980)
- GARDNER, R.J.M., McCREANOR, H.R., PARSLow, M.I. and VEALE, A.M.O.: Are 1 q+ chromosomes harmless?; Clinical Genet. 6, 383-393 (1974)
- GELDERMANN, A.H., RAKE, A.V. and BRITTEN, R.J.: Transcription of nonrepeated DNA in neonatal and fetal mice; Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 68, 172-176 (1971)
- GENEST, P.: An eleven-generation satellited Y-chromosome; Lancet I, 1073 (1972)
- GENEST, P. et LEJEUNE, J.: Recherche sur l'origine d'un petit chromosome Y multicentenaire; Ann. Génét. 15, 51-53 (1972)

- GERAEDTS, J.P.M. and PEARSON, P.L.: Fluorescent chromosome polymorphisms: Frequencies and segregations in a dutch population; *Cli. Genet.* 6, 247-257 (1974)
- GIMELLI, G., PORRO, E., SANTI, F., SCAPPATICCI, S. and ZUFFARDI, O.: „Jumping" satellites in three generations: A warning for paternity tests and prenatal diagnosis; *Hum. Genet.* 34, 315-318 (1976)
- DeGROUCHY, J., THIEFFRY, S.: Chromosomes marqueurs familiaux et aneuploidie. Role possible de l'interaction chromosomique; *Ann. Génét.* 7, no. 2, 76-83 (1964)
- HAGEMEIJER, A. and SMITH, E.M.E.: Partial trisomie 21. Further evidence that trisomy of band 21 q 22 is essential for Down's phenotype; *Hum. Genet.* 38, 15-23 (1977)
- HAHNEMANN, N. and EIBERG, H.: Antenatal genetic diagnosis in a kindred with a 15 p+ chromosome; *Clinical Genet.* 4, 464-478 (1973)
- HALBRECHT, J. and SHABTAY, F.: Human chromosome polymorphism and congenital malformations; *Clinical Genet.* 10, 113-122 (1976)
- HANSMANN, J.: Structural variability of human chromosome 9 in relation to its evolution; *Hum. Genet.* 31, 247-262 (1976)
- HARA, Y. and SASAKI, M.: A note on the origin of extra chromosomes in trisomies 13 and 21; *Proc. Jap. Acad.* 51, 295-299 (1975)
- HATFIELD, J.M.R., PEDEN, K.W.C. and WEST, R.M.: Binding of quinacrine to the human Y chromosome; *Chromosoma* 52, 67-71 (1975)
- HAUGE, M., POULSEN, H., HALBERG, A. and MIKKELSEN, M.: The value of fluorescent markers in the distinction between maternal and fetal chromosomes; *Humangenetik* 25, 187-191 (1975)
- HAYATA, I., OSHIMURA, M. and SANDBERG, A.A.: N-band polymorphism of human akrocentric chromosomes and its relevance to satellite association; *Hum. Genet.* 36, 55-61 (1977)
- HEITZ, E.: Das Heterochromatin der Moose; *Jahrbuch der Wiss. Bot.* 69, 762 (1928)
- HOEHN, H., AU, K., KARP, L.E. and MARTIN, G.M.: Somatic stability of variant C-band heterochromatin; *Hum. Genet.* 35, 163-168 (1977)
- JACOBS, P.A. and ROSS, A.: Structural abnormalities of the Y chromosome in man; *Nature* 210, 352-354 (1966)
- KAISER, P.: Pericentrische Inversionen menschlicher Chromosomen; Stuttgart 1980
- KIM, M.A.: Polymorphismus des konstitutiven Heterochromatins bei menschlichen A1-Metaphasechromosomen; *Humangenetik* 18, 213-217 (1973)
- KORENBERG, J.R., THERMAN, E. and DENNISTON, C.: Hot spots and functional organisation of human chromosomes; *Hum. Genet.* 43, 13-22 (1978)
- KORENBERG, R.D.: Structure of chromatin; *Ann. Rev. Biochem.* 46, 931-954 (1977)
- KNUUTILA, S. and GRIPENBERG, U.: The fluorescence pattern of a human Y q+ chromosome; *Hereditas* 70, 307-307 (1972)
- KUNKEL, L.M., SMITH, K.D. and BOYER, S.H.: Organization and heterogeneity of sequences within a repeating unit of human Y chromosome desoxy-ribonucleic acid. *Biochemistry* 18, 3343-3353 (1979)

- LANGMAID, H. and LAURENCE, K.M.: Deletion of the long arms of the Y chromosome with normal male development and intelligence; *J. Med. Genet.* 11, 208-210 (1974)
- LAU, Y.-F. and ARRIGHI, F.E.: Comparative studies of N-banding and silver staining of NOR's in human chromosomes. in: DRETS, M.E., BRUM-ZORRILLA, N. and FOLLE, G.A.: Joint seminar and workshop, Aspects of the chromosome organization and function. III Latin-American congress of genetics, Montevideo (1977)
- LIMON, J., GIBAS, Z., KALUZEWSKI, B. and MORUZGALA, T.: Demonstration of two different regions of lateral asymmetry in human Y chromosomes; *Hum. Genet.* 51, 247-252 (1979)
- LOBITZ, J.R., McCRAW, B.K. and HECHT, F.: Giemsa banding pattern of a heretiahe 1 q+ variant chromosome: a possible partial duplication; *J. Med. Genet.* 9, 276-279 (1972)
- LUBS, H.A. and RUDDLE, F.H.: Chromosome polymorphism in american negro and white populations. *Nature* 233, 134-136 (1971)
- LUBS, H.A. and RUDDLE, F.H.: (1969) Zitiert nach SCHWANITZ 1977
- LUCIANI, J.M., STAHL, A. et VAGUE, J.: Huit cas de satellite double, et occasionnelement triple, sur un chromosome du groupe D, dont six cas familiaux; *Ann. Génét.* 11, no. 3, 157-168 (1968)
- MADAN, K. and BOBROW, M.: Structural variation in chromosome No. 9; *Ann. Génét.* 17, 81-86 (1974)
- MADAN, K., GOOREN, L. and SCHOEMAKER, J.: Three cases of sex chromosome mosaicism with a nonfluorescent Y; *Hum. Genet.* 46, 295-304 (1979)
- MAGENIS, R.E., PALMER, C.G., WANG, L.: Heretability of chromosome banding variants; in: HOOK, E.B. and PORTER, J.H. (Eds.): *Population cytogenetics* 179-188, New York (1977)
- MARKOVIC, V., MORIC-PETROVIC, S., KALICANIN, P. et DESPOTOVIC, M.: Double satellite d'une chromosome du groupe D chez le père et la soeure d'un trisomique 21; *Ann. Génét.* 13, no. 2, 115-116 (1970)
- MCCRACKEN, A., DALY, P.A., ZOLNICK, M.R. and CLARK, A.M.: Twins and Q-banded chromosome polymorphisms; *Hum. Genet.* 45, 253-258 (1978)
- MacINTYRE, M.N., RUSTAD, R.C. and BOERGER-TURK, K.: Prenatal evaluation in a case of familial Y chromosome long arm deletion (Y q-); *J. Med. Genet.* 11, 367 (1974)
- McKAY, R.D.G.: The mechanism of G and C banding in mammalian metaphase chromosomes; *Chromosoma* 44, 1-14 (1973)
- McKAY, R.D.G., BOBROW, M. and COOKE, H.J.: The identification of a repeated DNA sequence involved in the karyotype polymorphism of the human Y chromosome; *Cytogenet. Cell Genet.* 21, 19-32 (1978)
- McKENZIE, W.H. and LUBS, H.A.: Human Q and C chromosomal variations: distribution and incidence; *Cytogenet. Cell Genet.* 14, 97-115 (1975)
- Meissner, L.F. and INHORN, S.L.: Normal male development with Y chromosome long arm deletion; *J. Med. Genet.* 9, 373-377 (1972)

- MIKELSAAR, A.V.N., TÜÜR, S.J. and KÄOSAAR, M.E.: Human karyotype polymorphism: I. Routine and fluorescence microscopic investigation of a normal adult population. *Humangenetik* 20, 89-101 (1973)
- MIKELSAAR, A.V.N., VIIKMAA, M.H., TÜÜR, S.J. and KÄOSAAR, M.E.: Human karyotype polymorphism: II. In distribution of individual according to the presence of brilliant bands in chromosomes 3, 4 and 13 in a normal population; *Humangenetik* 23, 59-63 (1974)
- MIKELSAAR, A.V.N., KÄOSAAR, M.E., TÜÜR, S.J., VIIKMAA, M.H., TALVIK, T.A. and LÄÄTS, J.: Human karyotype polymorphism: III. Routine and fluorescence microscopic investigation of chromosomes in normal adults and mentally retarded children; *Humangenetik* 26, 1-23 (1975)
- MIKELSAAR, A.V.N., ILUS, T. and KIVI, S.: Variant chromosome 3(inv3) in normal newborns and their parents, and in children with mental retardation; *Hum.Genet.* 41, 109-113 (1978)
- MÜLLER, H., KLINGER, H. and GLASSER, M.: Chromosome polymorphism in a human newborn population, II. *Cytogenet. Cell Genet.* 15, 239-255 (1975)
- MÜLLER, H. and KLINGER, H.P.: Chromosome polymorphism in a human newborn population. in: Pearson, P.L. and LEWIS, K.R. (Eds.): *Chromosomes today* Vol. 5, Jerusalem 1975.
- MULDAL, S. and OCKEY, C.H.: Muscular dystrophy and deletion of Y chromosome; *Lancet* II, 601 (1961)
- NAKAGOME, Y., OKA, S. and MATSUNAGA, E.: LBA technique in the detection of chromosome variants; *Hum.Genet.* 38, 315-324 (1977)
- NIELSEN, J., FRIEDRICH, U. and HREIDARSSON, A.B.: Frequency and genetic effect of 1 qh+; *Humangenetik* 21, 193-196 (1974 a)
- NIELSEN, J., FRIEDRICH, U., HREIDARSSON, A.B. and ZEUTHEN, E.: Frequency and segregation of 16 qh+; *Clin.Genet.* 5, 316-321 (1974 b)
- OKA, S., NAKAGOME, Y., MATSUNAGA, E. and ARIMA, M.: LBA technique in the detection of chromosome variants: I. Chromosomes with known sites of Q variants; *Hum.Genet.* 39, 31-37 (1977)
- OKADA, T.A. and COMINGS, D.E.: Mechanisms of chromosome banding. III. Similarity between G bands of mitotic chromosomes and chromomeres of mitotic chromosomes; *Chromosoma* 48, 65-71 (1974)
- OVERTON, K.M., MAGENIS, R.E., BRADY, T., CHAMBERLAIN, J. and PARKS, M.: Cytogenetic darkroom magic: Now you see them, now you don't; *Am.J.Hum.Genet.* 28, 417-419 (1976)
- PARDUE, M.L. and GALL, J.G.: Chromosomal lokalisation of mouse satellite DNA; *Science* 168, 1356-1358 (1970)
- PARIS CONFERENCE (1971): Standardization in human cytogenetics; *Birth Defects: The National Foundation* Vol. VIII, no. 7, (1972)
- PARIS CONFERENCE (1971)-SUPPLEMENT (1975): Standardization in human genetics; *Birth Defects: The National Foundation* Vol. XI, no. 9, (1975)
- PATIL, S.R. and LUBS, H.: Classification of qh regions in human chromosome 1, 9 and 16 by C-banding; *Hum.Genet.* 38, 35-38 (1977)

- PATIL, S.R. and Lubs, H.: Classification of qh regions in human chromosome 1, 9 and 16 by C-banding; *Hum. Genet.* 38, 35-38 (1977)
- PEARSON, P.L.-GERAEDTS, J.P.M. and van der LINDEN, A.G.J.M.: Human chromosome polymorphism. in: PFEIFFER, R.A.: *Modern Aspects of cytogenetics: Constitutive heterochromatin in man*. Symposia Medica Hoechst 6: Stuttgart 1973
- PRIEST, J.: Prenatal diagnosis of a de novo non-fluorescent Y chromosome; *J. Med. Genet.* 17, 314-323 (1980)
- RIEGER, R., MICHAELIS, A. and GREEN, M.M.: *Glossary of genetics and cytogenetics*; Berlin (4.): Springer (1976)
- ROBINSON, J.A. and BUCKTON, K.E.: Quinacrine fluorescence of variant and abnormal human Y chromosome; *Chromosoma* 35, 342-352 (1971)
- ROBINSON, J.A., BUCKTON, K.E., SPOWART, G., NEWTON, M., JACOBS, P.A.; EVANS, H.L. and HILL, R.: The segregation of human chromosome polymorphism; *Ann. Hum. Genet.* 40, 113 (1976)
- ROBINSON, J.A. and NEWTON, M.: A fluorescence polymorphism associated with Down's syndrome; *J. Med. Genet.* 14, 40-45 (1977)
- ROBINSON, J.A., BUCKTON, K.E., EVANS, H.J. and ROBSON, E.B.: A possible mutation of a fluorescence polymorphism; *Ann. Hum. Genet.* 41, 323 (1978)
- SANCHEZ, O. and YUNIS, J.J.: The relationship between repetitive DNA and chromosomal bands in man; *Chromosoma* 48, 191-202 (1974)
- SCHMIADY, H. and SPERLING, K.: Length of human C-bands in relation to the degree of chromosome condensation; *Hum. Genet.* 35, 107-111 (1976)
- SCHNEDL, W.: Fluorescenzuntersuchungen über die Längenvariabilität des Y Chromosoms beim Menschen; *Humangenetik* 12, 188-194 (1971 a)
- SCHNEDL, W.: Unterschiedliche Fluoreszenz der beiden homologen Chromosomen Nr. 3 beim Menschen; *Humangenetik* 12, 59-63 (1971 b)
- SCHNEDL, W.: Banding patterns of human chromosomes; *Nature New Biol.* 233 93 (1971 c)
- SCHNEDL, W.: Der Polymorphismus des menschlichen Chromosomensatzes - eine Möglichkeit für den Vaterschaftsnachweis; *Z. Rechtsmedizin* 74, 17-23 (1974)
- SCHWANITZ, G.: *Normvarianten menschlicher Chromosomen*; Erlangen (1977)
- SCHLIZER, D.: R-banding produced by DNase I digestion of Chromomycin-stained chromosomes; *Chromosoma* 64, 117-124 (1978)
- SCHWEIZER, D.: persönliche Mitteilung (1981)
- SCHWINGER, E.: Markerchromosomen in der Vaterschaftsbegutachtung; *Beiträge zur gerichtlichen Medizin* 32, 163-166 (1974)
- SEABRIGHT, M.: A rapid banding technique for human chromosomes; *Lancet* II, 971 (1971)
- SHABTAI, F. and HALBRECHT, I.: Risk of malignancy and chromosomal polymorphism: a possible mechanism of association; *Clin. Genet.* 15, 73-77 (1979)
- SOUDEK, D., O'SHAUGHNESSY, S., LARAYA, P. and MCCREARY, B.D.: Pericentric inversion of "fluorescent" segment in chromosome No. 3; *Humangenetik* 22, 343-346 (1974)

- SOUDEK,D.and SROKA,H.:Inversion of "fluorescent"segment in chromosome No.3:a polymorphic trait;Hum.Genet.44,109-115 (1978)
- SPELRLING,K.and LACKMANN,I.:Large human Y chromosome with two fluorescent bands;Clinical Genetics 2,352-355 (1971)
- SPELRLING,K.,KADEN,R.,GILLERT,K.-E.und WEISE,W.:Ein Fall von XX/XY-Chimärismus mit normale männlichen Habitus;Humangenetik 21,237-244 (1974)
- STARKMAN,M.N.and SHAW,M.W.: Atypical acrocentric chromosomes in negro and caucasian mongols;Amer.J.Hum.Genet.19,162-173 (1967)
- SUMNER,A.T.:A simple method for demonstrating centromeric heterochromatin;Exp.Cell Res.75,304-306 (1972)
- SUMNER,A.T.:The use of X-ray microanalysis to study chromosome banding;Chromosomes today 6,51-58 (1977)
- TELFER,M.,BAKER,D.and ROLLIN,J.:PROBABLE long-arm deletion of Y chromosome in a boy of short stature;Lancet,March 1973,608
- TIEPOLO,L.and ZUFFARDI,O.:Localisation of factors controlling spermatogenesis in the nonfluorescent portion of the human Y chromosome long arm;Hum.Genet.34,119-124 (1976)
- TISHLER,P.V.,LAMBOROT-MANZUR,M.and ATKINS,L.:Polymorphism of the human Y chromosome:Fluorescenc microscopic studies on the sites of morphologic variation;Clinical Genetics 3,116-122 (1972)
- TÜÜR,S.,KÄOSAAR,M.and MIKELSAAR,A.V.N.:1 q+ variants in a normal adult population (one with a pericentric inversion);Humangenetik 24,217-220(1974)
- UNNERUS,V.,FELLMANN,J.and de la CHAPELLE,A.:The length of the human Y chromosome;Cytogenetics 6,213-227 (1967)
- VERMA,R.S.and LUBS,H.A.:Variation in human acrocentric chromosomes with acridine orange reverse banding;Humangenetik 30,225-235 (1975)
- VERMA,R.s.,DOSIK,H.and LUBS,H.A.:Size variation polymorphisms of the short arm of human acrocentric chromosomes determined by R-banding by fluorescence using acridine orange (RFA);Hum.Genet.38,231-234 (1977)
- VERMA,R.S.and DOSIK,H.:The technical variables associated with the frequencies of QFQ,RFA and CBG heteromorphisms of human chromosomes;Clinical Genetics 15,450-453 (1979)
- VERMA,R.S.,RODRIGUEZ,J.and DOSIK,H.:Human chromosomes heteromorphisms in american blacks:II.Higher incidence of pericentric inversions of secondary constriction regions (h);Am.J.Med.Genet.8,17-27 (1981)
- VIEGAS-PEQUIGNOT and DUTRILLAUX,B.:Detection of GC-rich heterochromatin by 5-azacytidine in mammals;Hum.Genet.57,134-137 (1981)
- WACHTLER,F.and MUSIL,R.:On the structure and polymorphism of the human chromosome No.15;Hum.Genet.56,115-118 (1980)
- WAGENBICHLER,P.,KILLIAN,RETT,A.and SCHNEDL,W.:Origin of the extra chromosome No.21 in Down's syndrome;Hum.Genet,32,13-16 (1976)
- WALZER,S.,BREAK,G.and GERALD,P.S.:A chromosome survey of 2400 normal newborn infants;J.Pediat.74,438-448 (1969)

- WATSON, J.D. and CRICK, F.H.C.: A structure for desoxyribose nucleic acid; *Nature* 171, 737-738 (1953)
- WEISBLUM, B. and de HASETH, P.L.: Nucleotide specificity of the quinacrine staining reactions for chromosomes; *Chromosomes today* 4, 35-51 (1973)
- WOLF, U.: Culture and preparation of cells from amniotic fluid. in: SCHWARZACHER, H.G. and WOLF, U.: *Methods in human cytogenetics*, 59-70, Berlin (1974)
- YAMADA, K. and HASEGAWA, T.: Types and frequencies of Q-variant chromosomes in a Japanese population; *Hum. Genet.* 44, 89-98 (1978)
- YASMINEH, W.G. and YUNIS, J.J.: Satellite DNA in mouse autosomal heterochromatin; *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 35, 779-785 (1969)
- YUNIS, J.J.: Interphase desoxyribonucleic acid condensation, later deoxyribonucleic acid replication, and gene inactivation; *Nature* 205, 311 (1965)
- YUNIS, J.J.: Structure and molecular organization of chromosomes. in: YUNIS, J.J. (Ed.): *Human chromosome methodology* (2nd), 1-16, (1974)
- YUNIS, J.J. and SANCHEZ, O.: The G-banded prophase chromosomes in man; *Humangenetik* 27, 167-172 (1975)
- YUNIS, J.J., TSAI, M.Y. and WILLEY, A.M.: Molecular organization and function of the human genome. in: YUNIS, J.J. (Ed.): *Molecular structure of human chromosomes*, New York, 1-27 (1977)
- Zankl, H. and ZANG, K.D.: Structural variability of the normal human karyotype; *Humangenetik* 13, 160-162 (1971)
- ZANKL, H.: Untersuchungen zur Häufigkeit und Bedeutung chromosomaler Polymorphismen des menschlichen Karyotyps; *Diss. München* (1974)
- Nachtrag:
- HEITZ, E.: Heterochromatin, Chromocentren, Chromomere; *Berl. Dtsch. Bot. Ges.* 47, 274 (1929)
- HEITZ, E.: Die Ursache der gesetzmäßigen Zahl, Lage, Form und Größe pflanzlicher Nukleolen; *Planta* 12, 775 (1931)

Herzlicher Dank sei gesagt

Herrn Prof. Dr. med. R.A.Pfeiffer für die Überlassung des Themas,
den Kollegen und Kolleginnen für die anregenden Diskussionen und
nützlichen Hinweise,

den Mitarbeitern und Mitarbeiterinnen des Institutes für
Humangenetik für "tea and sympathy", und

nicht zuletzt auch allen anderen, die zum Gelingen der Arbeit
beigetragen haben.

Am 14. August 1954 wurde ich als einziges Kind des Dipl.-Ing. Roland Hanke und seiner Ehefrau Rita, geb. Brysch in Nürnberg geboren.

Von 1960 bis 1964 besuchte ich die Michael-Poeschke-Schule in Erlangen, in der Folgezeit das Ohm Gymnasium Erlangen, an dem ich 1974 das Abitur ablegte.

Es folgte die Ableistung des Zivilen Ersatzdienstes vom 1.12.1974 bis zum 31.3.1976 im Wachsaal der Neurochirurgischen Universitätsklinik Erlangen (Dir.: Prof. Dr. W. Schiefer).

Hier war ich seitdem als studentische Hilfskraft tätig.

Das Studium der Humanmedizin begann ich im Sommersemester 1977 an der Universität Erlangen-Nürnberg, die Approbation erhielt ich 1983.

